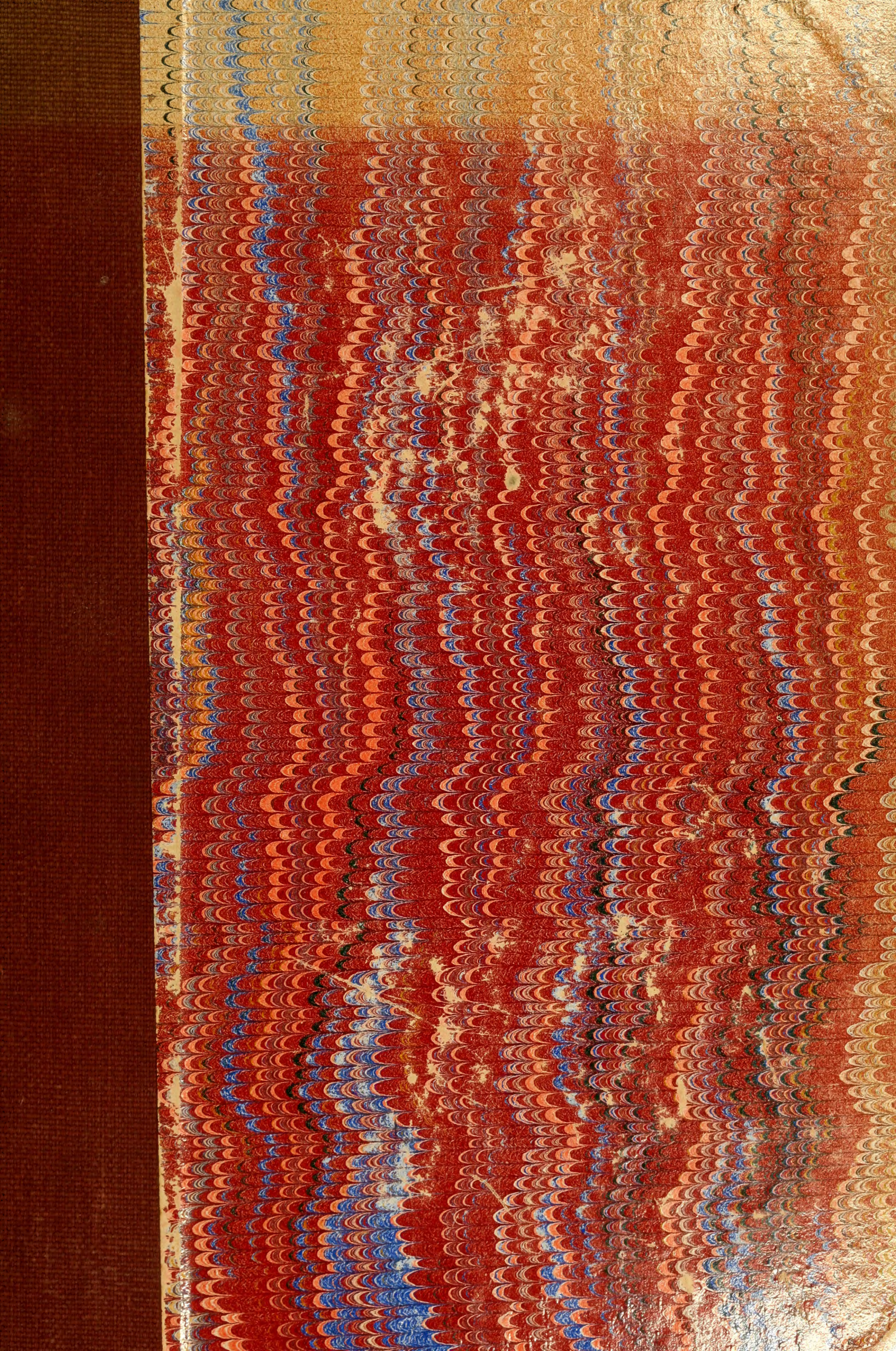
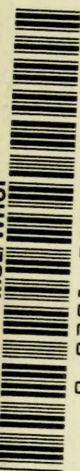



0 0301 0015798 8

HANDBUCH

der

Pathogenen Protozoen.

Unter Mitwirkung von

Exz. Prof. Dr. **P. Ehrlich**, Frankfurt a. M., Prof. Dr. **Fr. Fülleborn**, Hamburg, **G. Giemsa**, Hamburg, Dr. **R. Gonder**, Frankfurt a. M., Dr. **L. Halberstaedter**, Berlin-Charlottenburg, Prof. Dr. **M. Hartmann**, Berlin, Dr. **A. Leber**, Göttingen, Dr. **B. Lipschütz**, Wien, Dr. **Manteufel**, Berlin, Dr. **R. Maresch**, Wien, Dr. **M. Mayer**, Hamburg, Prof. Dr. **P. Mühlens**, Hamburg, Dr. **E. Neresheimer**, Wien, Prof. Dr. **B. Nocht**, Hamburg, Prof. Dr. **H. Ollwig**, Daressalam, Dr. **Reichenow**, Berlin, Dr. **H. da Rocha-Lima**, Hamburg, Dr. **E. Rodenwaldt**, Togo, Dr. **C. Schellack**, Berlin, Dr. **O. Schröder**, Heidelberg, Prof. Dr. **A. Schuberg**, Berlin-Großlichterfelde, Dr. **E. Teichmann**, Frankfurt a. M., Dr. **H. Werner**, Hamburg

herausgegeben

von

S. von Prowazek

in Hamburg.

ERSTER BAND.

Mit 6 farbigen und 7 schwarzen Tafeln und 205 Figuren im Text.



Leipzig, 1912.

Verlag von Johann Ambrosius Barth.





Inhaltsverzeichnis.

Verzeichnis der Tafeln.



Vorwort.

Die großen Fortschritte der Protistenkunde der letzten Jahre machten die Herausgabe eines Handbuches der pathogenen Protozoen zur Notwendigkeit. Der Herausgeber war bemüht, für die monographische Bearbeitung der einzelnen, in Frage kommenden Protozoengruppen Forscher zu gewinnen, die im besonderen auf dem jedesmaligen Gebiete gearbeitet haben und mit der zerstreuten, oft sehr schwer zugänglichen Literatur vertraut sind.

Bei der Herausgabe des Handbuches ist er wesentlich von Prof. Dr. Fülleborn (Hamburg), der die Redaktion des ersten Bandes übernommen hatte, von Dr. Lipschütz (Wien) und Dr. Rocha Lima (Hamburg) unterstützt worden und spricht hiermit den genannten Herren für die mühevolle Mitarbeit den besten Dank aus.

Der Herausgeber.



Einleitung.

Von

Prof. Dr. **B. Nocht.**

Mit dem Studium der Protozoen beschäftigten sich bis vor wenigen Lustren nur ganz vereinzelte Mediziner, die entweder besonderes, naturwissenschaftliches Interesse dazu veranlaßte oder die, wie der verdiente L. Pfeiffer davon Aufschluß über die unbekannte Ätiologie einiger menschlichen Infektionskrankheiten erwarteten. Diese Hoffnung hat nicht getäuscht. Längere Zeit blieben allerdings die Malariaparasiten und die bei Dysenterie gefundenen Amöben die einzigen Protozoen, von denen man wußte, daß sie bei wichtigen menschlichen Infektionskrankheiten eine ätiologische Bedeutung haben und auch bei diesen beiden Krankheiten mußte man sich lange mit der bloßen Tatsache des Vorhandenseins von bestimmten Protozoen im erkrankten Organismus und ihres Vermögens, bei künstlicher Übertragung die gleiche Krankheit hervorzurufen, begnügen, ohne daß es gelang, über die Herkunft der Parasiten aus der Außenwelt und ihre natürlichen Einwanderungswege in den menschlichen Körper Aufschluß zu erhalten. Erst als man die vergeblichen Versuche aufgab, ebenso wie bei den Bakterien auf dem Wege der Reinzüchtung der Krankheitserreger auf künstlichen Nährböden weitere ätiologische Aufschlüsse zu erhalten, fand man die geeigneten Stellen, um den Hebel für erfolgreichere Forschungen anzusetzen. Nachdem die Protozoennatur einer wichtigen Tierseuche, des Texasfiebers der Rinder erkannt und gefunden war, daß die Erreger dieser Krankheit, in den roten Blutkörperchen schmarotzende Piroplasmen, durch blutsaugende Insekten, nämlich durch Zecken übertragen werden, entdeckte Ronald Ross, daß sich die schon vor 30 Jahren von Laveran gesehenen und in ihrem Entwicklungsgang im menschlichen Blut zwar genau verfolgten, in der Außenwelt aber allen Versuchen der Züchtung und Erhaltung ihrer Lebensfähigkeit trotzenden Malariaprotozoen in den Anophelesmücken geschlechtlich fortpflanzen und vermehren und daß der Stich einer Anophelesmücke, die mit den am Ende ihres Entwicklungsganges in diesem zweiten Wirt angelangten Malariaparasiten beladen ist, die Parasiten und die Malaria auf den Menschen überträgt. Nun folgte eine Hochflut von Beobachtungen, die die Protozoennatur einer Reihe wichtiger tierischer und menschlicher Infektionskrankheiten, die bis dahin z. T. noch nicht einmal als selbständige Krankheiten hatten differenziert werden können, aufdeckten und zeigten, daß die Blutschmarotzer unter den pathogenen Protozoen mit wenigen Ausnahmen einen ähnlichen doppelten Entwicklungsgang wie die Malariapara-

siten, nämlich einmal im Menschen oder warmblütigen Tier, zum anderen in blutsaugenden Insekten durchmachen und dabei in überraschender Ausschließlichkeit an ganz bestimmte Wirte und Zwischenwirte angepaßt sind. Es sei an die Auffindung der verschiedenen Trypanosomenarten als Erreger wichtiger Tierseuchen und der menschlichen Schlafkrankheit, an die verschiedenen, tierpathogenen Piroplasmenarten und an die Aufklärung der Ätiologie des Kala Azar erinnert, jener unheimlichen, indischen Krankheit, die man bis zur Auffindung ihres protozoischen Erregers noch gar nicht allgemein von der Malaria zu unterscheiden gelernt hatte.

Daß diese Entdeckungen zunächst vorzugsweise auf dem Gebiet der Tropenpathologie gemacht wurden, hängt damit zusammen, daß für die im Blute schmarotzenden Protozoen die Bedingungen in den Tropen besonders günstig liegen. Blutsaugende Insekten sind in den Tropen sehr viel zahlreicher und in größerer Mannigfaltigkeit vorhanden als bei uns und die Höhe der Umgebungstemperatur begünstigt bei diesen Poikilothermen die Entwicklung und Vermehrung protozoischer Schmarotzer viel mehr als bei uns. Somit wurde bald das Studium der pathogenen Protozoen gerade für den Tropenmediziner zur unumgänglichen Notwendigkeit.

Die Beschäftigung mit den pathogenen Protozoen ist aber nachgerade auch für den Arzt und Hygieniker, dessen medizinische Interessen sich auf die heimischen Verhältnisse beschränken, unentbehrlich geworden. Neben die Bakteriologie ist auch hier die Protozoenkunde als Wissenschaft von ebenbürtiger Bedeutung getreten. Man denke an die Entdeckung des Syphiliserregers durch Schaudinn und an die Auffindung der großen Gruppe der *Chlamydozoen* durch Prowazek, deren ätiologische Bedeutung für die Variola, die Trachomkrankheiten, die Lyssa u. a. wichtige Krankheiten jetzt außer Zweifel steht.

Abgesehen von diesen ätiologischen Verhältnissen hat das Studium der pathogenen Protozoen für den Arzt die willkommene Wirkung, daß es ihn viel mehr als es die bisher hauptsächlich von Medizinern für medizinische Bedürfnisse einseitig entwickelte Bakteriologie vermag, mit den allgemeinen Naturwissenschaften, insbesondere mit der Zoologie, in neue vielfache Berührung bringt und daß es den Hygieniker auch bei der Aufgabe der Bekämpfung der protozoischen Infektionskrankheiten vielfach in ganz andere Bahnen leitet, als er bei der Bekämpfung der durch Bakterien bedingten Krankheiten zu wandeln gewohnt war. Die Beschäftigung mit den Arthropoden als Wirten der pathogenen Protozoen, das Studium der Lebensverhältnisse dieser Tiere, die Maßnahmen zum Schutze vor ihnen, zu ihrer Bekämpfung und Ausrottung sind ganz neue Aufgaben von höchster Wichtigkeit und Anziehungskraft in wissenschaftlicher wie praktischer Hinsicht, die weitab von dem Schema der gewöhnlichen Desinfektions- und Bekämpfungsmaßnahmen bei Infektionskrankheiten liegen. Dasselbe gilt von den morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Problemen beim Studium der pathogenen Protozoen, deren Grundformen sich bei der Anpassung an ihre Wirte weitgehend und mannigfach geändert haben. Auch die Krankheitspathogenese, die nähere und entferntere, toxische oder sonst destruktive Wirkung der pathogenen Protozoen, die Gestaltung der Immunitätsverhältnisse, die sich z. T. in der Richtung zur Anpassung, zu einer Immunitas non sterilisans bewegen, die Neigung zum Rezidivieren u. a. m., alles das sind Dinge von neuer, anziehender und anscheinend besonders verwickelter Art, die uns schon jetzt, trotzdem wir erst in den ersten Anfängen der Forschung hierüber stehen, ganz neue Seiten in der Lehre von den Infektionskrankheiten zeigen. Endlich sei an die bahnbrechenden, chemotherapeutischen Untersuchungen von Ehrlich, die bei den im Vergleich zu den Bakterien viel empfindlicheren und ungleich reaktionsfähigeren Protozoen zu ganz überraschenden Entdeckungen und zugleich zu den ersten praktisch wichtigen Erfolgen geführt haben, erinnert.

Alle diese zahlreichen und in wissenschaftlicher wie praktischer Beziehung gleich wichtigen Entdeckungen sind in einer nachgerade fast unübersehbar gewordenen Menge von sich überstürzenden Veröffentlichungen aus aller Herren Länder niedergelegt, so daß es nicht bloß dem Lernenden, sondern auch dem Spezialforscher fast unmöglich geworden ist, sich auf diesem großen, neuen Gebiete zu orientieren und orientiert zu halten. Dem Bedürfnis nach einem Nachschlagebuch, das rasch über den Stand der wichtigsten Fragen bezüglich der protozoischen Infektionskrankheiten Aufschluß gibt, soll das vorliegende Buch entgegenkommen. Eine abschließende Darstellung der noch im Werden befindlichen Wissenschaft von den pathogenen Protozoen darf aber nicht erwartet werden, das Buch führt in Neuland, das zwar in weiten Gebieten schon mit überraschenden und mannigfachen Erfolgen bearbeitet ist, aber nach fast allen Richtungen hin noch jedem Forscher die reichste Ausbeute verspricht.



Fixierung und Färbung der Protozoen.

Von

G. Giemsa, Hamburg.

Inhaltsverzeichnis.

I. Allgemeines.

Beim Studium protozoischer Krankheitserreger leistet uns die färberische Darstellung der Parasiten sehr wertvolle Dienste. Sie erleichtert nicht nur das Auffinden der Mikroorganismen, sondern ermöglicht auch eine genauere Orientierung über den morphologischen Aufbau der Protistenzelle als dies im ungefärbten, lediglich durch Diffraktion der Lichtstrahlen erhaltenen Strukturbild möglich ist. Der tiefere Einblick, den uns nach dieser Richtung hin das gefärbte Objekt gestattet, ist aber bekanntlich von großer Bedeutung für das Studium gewisser, biologisch wichtiger Vorgänge innerhalb der Zelle und für die Verfolgung des oft sehr komplizierten Entwicklungsganges, den manche Protozoen im Organismus des befallenen Wirtes und Zwischenwirtes durchzumachen haben. Die feineren Differenzierungsmethoden können aber auch für die Diagnose gewisser Krankheiten, also rein praktisch, bedeutungsvoll werden, wenn es sich darum handelt, bestimmte pathogene Mikroorganismen, die als Erreger einer Krankheit in Betracht kommen können, von anderen ihnen morphologisch nahestehenden Arten harmloser Natur zu unterscheiden (Amöben). Freilich stellen die Verfahren, bei denen eine subtil durchgeführte Farbenanalyse der Zelle angestrebt wird, größere Ansprüche an unsere koloristische Kunst als jene, die lediglich einer groberen Färbung, einer Herstellung sog. „Übersichtsbilder“ Rechnung tragen.

Die allgemeinen Grundsätze, die bei der färberischen Darstellung der Protozoen maßgebend sind, schließen sich eng an die an, welche in der allgemeinen Histologie obwalten, d. h. hier wie dort gilt es, den Fixierungs- und Färbungsprozeß so zu gestalten, daß die ursprüngliche im Leben vorhandene Form und Masse der Zelle möglichst erhalten bleibt (Tellyesniczky). Es ist von vornherein zu erwarten, daß diesen Anforderungen am besten solche Methoden entsprechen werden, bei denen die Zelle nach momentaner Abtötung durch ununterbrochenes Behandeln mit geeigneten flüssigen Medien vor Schrumpfungen möglichst geschützt wird und im Bilde plastisch erscheint (Feuchtpräparate, Schnitte), im Gegensatz zu den Trockenausstrichen, bei denen infolge Verdunsten der Zellflüssigkeit gewisse Formveränderungen, Verzerrungen und Verlagerungen fester Zellbestandteile (Kerne) unvermeidlich sind. Immerhin wird auch bei der Beurteilung verschiedener, mit Hilfe der Feuchtmethode darstellbarer Zelleinzelheiten Vorsicht geboten sein. Mit Recht haben sich im Laufe der Zeit Stimmen erhoben, die mancherlei mit unseren bisherigen Fixierungs- und Färbemethoden erhaltene und als naturgetreu angesehene Zellstrukturen (Schaumstruktur Bütschli's u. a.) als Artefakte (Eiweißfällungen) ansprachen, hervorgerufen durch den der Färbung vorausgekenden Fixierungsprozeß. Auf die überaus mannigfachen Einzelheiten, die unter diese interessante Streitfrage fallen, kann hier nicht eingegangen werden. Als feststehend ist anzusehen, daß die meisten in der Histologie gebräuchlichen Fixierungsmittel unter Umständen imstande sind, mit gelösten Proteinstoffen, also auch mit denen der Zelle c h r o m o p h i l e Niederschläge, d. h. Kunstprodukte, zu bilden, die dann bei Betrachtung des gefärbten Objektes zu falschen Deutungen Veranlassung geben können. Insbesondere haben dies Tellyesniczky, Berthold, Flemming, Schwarz, Löwit, Fischer, Heidenhain, Lee und Mayer für eine Reihe unserer Härtungsmittel, zum Teil durch sehr eingehende experimentelle Studien nachgewiesen. Es bedarf wohl kaum eines Hinweises, daß die Beherrschung dieses Stoffes für einen jeden Vorbedingung ist, der sich mit dem Studium der Protozoologie ernsthaft beschäftigen will. Wem die umfangreiche Litteratur nicht zur Verfügung steht, der findet in den Monographien von Fischer, Heidenhain und Lee und Mayer Hinweise auf die Arbeiten derjenigen Autoren, die sich mit diesem Thema näher beschäftigt haben, zum Teil auch eine eingehende Kritik der dort niedergelegten Anschauungen.

Nur der mit der Wirkungsweise der gebräuchlichen Fixierungs- und Färbemittel durchaus Vertraute wird imstande sein, die des öfteren an ihn herantretende und mitunter recht schwierige Frage, ob im gegebenen Falle Natur- oder Kunstprodukt (chromophiler Niederschlag) vorliegt durch Hinzuziehung anderer einwandfreier Untersuchungsmethoden zur sicheren Entscheidung zu bringen. Die Schwierigkeit derartiger Diagnosen wird natürlich um so größer sein, je kleiner das Protozoon selbst ist und nachdem wir vor kurzem in den „Chlamydozoen" Prowazek's Mikroorganismen von kleinsten Dimensionen und granulaähnlichem Aussehen kennen gelernt haben, die, an der Grenze der Sichtbarkeit befindlich, einer Differenzierung überhaupt kaum noch zugänglich sind, beschränkt sich jetzt die erwähnte Frage nicht allein auf Einzelerscheinungen innerhalb des Protistenleibes, sondern betrifft die vermutliche Zelle als Ganzes. Das sicherste Mittel, um sich vor Irrtümern zu schützen, wird stets die genaue Beobachtung des un- (ev. auch vital-) gefärbten lebenden Objektes im richtig abgeblendeten Mikroskop bleiben. Erst eine Koinzidenz des im lebenden und gefärbten Objekt Gesehenen wird uns der Sorge um einen Fehltritt bei der Deutung fraglicher Gebilde entheben. Hieraus ergibt sich von selbst, daß man sich es zur Regel machen soll, zunächst den lebenden Parasiten nach allen Richtungen hin, besonders auch unter Hinzuziehung des Dunkelfeldes, zu untersuchen. Eine ganz vorzügliche Auflösung erzielt man hierbei mit dem Zeiss'schen Paraboloidkondensor unter Benutzung der neuen, außerordentlich lichtstarken Nernst-Mikroskopierlampe (mit Tinol-Brenner). Mit Vorsicht werden stets solche Zellgebilde zu deuten sein, welche uns wohl das Farbenbild, nicht aber das lebende, selbst nicht andeutungsweise darbietet. Nie wird man sich in solchen Fällen mit einem einzigen Fixierungs- und Tinktionsverfahren begnügen dürfen, vielmehr wird ein endgültiges Urteil erst nach ausgiebigem Gebrauch anderer Methoden zu fällen sein, wobei vor allem solche Fixiermittel heranzuziehen sind, die nur physikalisch wirken. Die vielseitige Verwendbarkeit des Dunkelfeldes hat kürzlich Haidukow in sehr eingehender Weise beschrieben. Bezüglich der Untersuchung des lebenden Objektes sei ferner auf das ausgezeichnete Taschenbuch Prowazek's und auf die Mikrotechnik von Apathy verwiesen, dem wir neben einer großen Reihe sehr wertvoller mikrotechnischer Winke eine ausführliche kritische Besprechung der mikroskopischen Untersuchungsmethoden verdanken.

II. Fixierung.

A. Wesen der Fixierung.

Unter dem Begriff „Fixieren" pflegt man in der Histologie das Abtöten, das sog. Härten und Konservieren von Zellen (im weitesten Sinne des Wortes) zusammenzufassen. Mit der Fixierung bereiten wir das Material für die später zu erfolgende Färbung vor. Hierbei gilt es, der Zelle unter möglichster Erhaltung ihrer im Leben vorhandenen Gestalt eine gewisse Widerstandsfähigkeit zu geben gegen alle Prozeduren, die bis zur Fertigstellung des gefärbten mikroskopischen Präparates nötig sind. Diese Resistenz soll sich hauptsächlich darin äußern, daß Lösungs-, Quellungs- oder Schrumpfungserscheinungen sowie Zersetzungsvorgänge, die stets mit einer Deformation der Zelle in kausalem Zusammenhang stehen, nach Möglichkeit ausgeschaltet werden.

Unsere Fixierungsmittel, die fast ausnahmslos zugleich abtötend, härtend und konservierend wirken, sind wohl meist auf empirischem Wege gefunden worden. Erst seit verhältnismäßig kurzer Zeit ist man bestrebt, ihre Wirkungsweise wissenschaft-

lich zu ergründen. TELLYESNICZKY hält auf Grund seiner eigenen und der FISCHERschen Untersuchungen eine „gute" Fixierung der Zelle für identisch mit einem durch Niederschlagbildung hervorgerufenen Erstarren ihres gesamten Inhalts. Freilich müssen erst noch weitere nach dieser Richtung hin anzustellende Studien lehren, inwieweit sich die Ergebnisse der FISCHER'schen Versuche, die größtenteils an Eiweißkörpern „in vitro" gemacht sind, auf die Zelle übertragen lassen. Zum Teil hat die Auslegung seiner Befunde bereits eine eingehende Kritik erfahren, so durch BENDA, BERG und HEIDENHAIN.

B. Fixierungsmittel.

Das sicherste Verfahren, um die im Leben vorhandenen Formen der Parasiten auch nach deren Tode zu erhalten, besteht darin, daß wir das lebende Material direkt im Fixierungsmittel zum Absterben bringen. Hierbei sind solche Mittel besonders wertvoll, welche beim Zusammentreffen mit der Protistenzelle in dieser ein blitzartiges Sistieren sämtlicher Bewegungserscheinungen verursachen, so daß insbesondere auch ein möglichst naturgetreues Bild der sonst sehr leicht deformierbaren lokomotorischen Organe (Cilien, undulierende Membranen, Pseudopodien usw.) gewährleistet wird.

Als ideal müßte ein solches Fixierungsmittel anzusehen sein, welches neben der Eigenschaft einer guten Totalkonservierung auch noch die hätte, jeden einzelnen Zellbestandteil der späteren Färbung zugängig zu machen. Leider verfügen wir über ein solches Fixierungsmittel zurzeit nicht. Ein jedes der uns bisher bekannten hat vielmehr seine Sondervorteile und Nachteile gegenüber dem anderen. Bei dem einen z. B. tritt die Eigenschaft einer guten Kernkonservierung in den Vordergrund, das Verfahren krankt aber an einer schlechten Erhaltung der übrigen Substanzen, bei dem anderen kann das Umgekehrte der Fall sein.

Ferner spielt bei der Wahl des Mittels sehr oft noch die Rücksichtnahme auf das später zu erfolgende Färbeverfahren eine entscheidende Rolle. Lehrt doch die Erfahrung, daß die ursprüngliche, natürliche Affinität, welche die ohne stärkere chemische Eingriffe (z. B. durch Trocknen) fixierten Zellbestandteile Farbstoffen gegenüber besitzen, durch den einen oder anderen Fixierungsprozeß bisweilen gänzlich verloren gehen kann.

Von den zahlreichen Fixierungs-(Härtungs-)mitteln seien nachstehend die wichtigsten genannt.

1. Chemisch inaktive Fixierungsmittel.

a) Alkohol.

Differenziert weder Kerne noch Plasma besonders gut, hat aber, ebenso wie Aceton, Methylalkohol und Äther vor den meisten anderen Fixierungsmitteln den sehr bemerkenswerten Vorteil, daß er die Zelle nur physikalisch durch Wasserentziehung härtet unter Erhaltung ihrer ursprünglichen Affinität zu verschiedenen Farbstoffklassen. Seine Verwendung ist daher hauptsächlich dann angezeigt, ja gewissermaßen unentbehrlich, wenn es darauf ankommt, die einzelnen Zellbestandteile auf ihre natürliche Chromophilie zu prüfen. Die stärkeren Konzentrationen (96–100 %), welche schnell abtöten und mit ziemlicher Tiefenwirkung fixieren, aber leicht Schrumpfungen verursachen, benutzt man gewöhnlich, um rasch Übersichtsfärbungen für diagnostische Zwecke zu erzielen. Die schwächeren (60, 70, 90 %) — in aufsteigender Reihe bis zum Alcohol absolutus angewandt — wirken schonender, weniger schrumpfend, aber viel langsamer und sind bezüglich der schnellen Abtötung nicht zuverlässig. Sie leisten hauptsächlich bei der Fixierung bereits abgestorbenen Materials gute Dienste. Hat

man keine Gelegenheit, die ausfixierten Stücke sogleich in Paraffin zu betten, so kann man sie in 60 % igem Alkohol aufbewahren. Hierbei ist jedoch zu bemerken, daß Kern wie Plasma selbst in diesem indifferenten Medium infolge hydrolytischer Vorgänge — z. B. Hydrolyse der Kernphosphorsäure (s. S. 18) — oft schon nach wenigen Tagen ihr ursprüngliches Elektionsvermögen gewissen Farbstoffen gegenüber verlieren können.

b) Aceton

wirkt energischer, im übrigen aber ganz ähnlich wie Alkohol. Wegen seiner Eigenschaft, besonders stark und schnell zu entwässern, kann er bei der sog. Nachhärtung nützliche Dienste leisten. Bei längerem Verweilen in absolutem Aceton schrumpft jedoch das Material sehr leicht, auch wird es sehr spröde und infolgedessen für die Herstellung dünner Schnitte wenig geeignet.

c) Methylalkohol leistet annähernd dasselbe wie Aceton.

d) Äther wird nie allein benutzt, weil er mit Wasser nicht in jedem Verhältnis mischbar ist und daher auch nicht in die wasserreichen Organstücke einzudringen vermag. Meist verwendet man ihn zu gleichen Teilen mit Alcoh. abs. vermischt. Ein solches Gemisch tötet schnell und fixiert energisch, wirkt aber bei Schnitten und Feuchtpräparaten stark schrumpfend. Dagegen übt es diese nachteilige Wirkung nicht bei Trockenausstrichen (s. S. 14) aus und wird dort, namentlich wenn es sich um Schnelldiagnosen handelt, viel gebraucht. Eine Fixierung von 2—3 Minuten genügt für diese Zwecke gewöhnlich.

2. Chemisch aktive Mittel.

a) Sublimat (Quecksilberchlorid), löslich in Wasser (kaltes löst 7, heißes 54, Alkohol 33, Äther 25 %). Kochsalz und Chlorammonium, mit dem es Doppelsalze bildet, erhöht seine Wasserlöslichkeit erheblich.

Sublimat gilt im allgemeinen als eines der besten Fixierungsmittel. Es tötet schnell, hat eine gute Tiefenwirkung und differenziert Kern und Plasma sehr gut. Es läßt sich nach Ausübung der Wirkung durch Jod leicht aus den Präparaten wieder entfernen und schont — allein oder in Verbindung mit anderen indifferenten Härtungsmitteln angewandt — die natürliche Cromophilie der Zelle am meisten von allen chemisch wirkenden Fixierungsflüssigkeiten, unter der Voraussetzung, daß das überschüsige, bei der Nachbehandlung vom Präparat gebundene Jod — am besten durch Natriumthiosulfat (Heidenhain, Giemsa) — wieder beseitigt wird.

Beim Gebrauch von Sublimat oder Sublimatgemischen ist folgendes zu beachten:

Metallpinzetten jeder Art sind zu vermeiden, am besten eignen sich Pinzetten mit Horn- oder Elfenbeinschenkeln.

Schnitte müssen möglichst dünn sein (nicht über 5 μ).

Die Fixierungsgefäße müssen, namentlich während einer Dauerbehandlung mit konzentrierten Lösungen durch Glas- oder Gummistöpsel gut verschlossen sein, da sonst höchst lästige kristallinische Sublimatausscheidungen unvermeidlich sind. Sind solche entstanden, so behandelt man das Material vor der Jodierung entweder längere Zeit (24 Stunden) mit destilliertem Wasser oder noch besser mit 70 % igem Alkohol.

Zum Entquecksilbern der Präparate benutzt man entweder dünnen Jodalkohol (1—2 ccm der offizinellen Jodtinktur auf 100 ccm 70 % igen Alkohol) oder wässerige bzw. alkoholhaltige Jodjodkaliumgemische, zur Entfernung des Jods Natriumthiosulfat (s. S. 28).

In der Protozoologie bevorzugt man folgende sublimathaltigen Fixierungsflüssigkeiten, von denen die Mehrzahl auch in der allgemeinen Histologie Anwendung finden.

Konzentrierte wässerige Sublimat-Lösung (7 %).

Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN:

Sublimat (konz. wässer. Lösung) 2 Teile + Alcoh. abs. 1 Teil. Gibt — namentlich warm (bei 60—70 °) angewandt — vorzügliche Konservierung der chromatischen Substanz und gestattet, weil Sublimat in Alkohol weit löslicher als in Wasser ist, eine Dauerkonservierung, ohne daß sich im Material Kristalle abscheiden.

Sublimat-Alkohol-Eisessig nach SCHAUDINN:

Sublimat konz. wässerig 100 ccm. Alc. abs. 50 ccm. Eisessig 5 ccm. Fixiert Granulationen besonders gut, ebenso

Sublimat-Eisessig nach BORGERT:

Sublimat konz. wässerige Lösung 10 Teile, Eisessig 2—3 Teile.

Zenkersches Gemisch:

Sublimat 5,0 g
Kaliumbichromat 2,5 g
Natrium sulfuric. 1,0 g
Aq. dest. 100,0 g.

Dieser Lösung, welche warm zu bereiten ist, setzt man kurz vor dem Gebrauch 5 Teile Eisessig zu.

b) **Formalin** (40 %ige wässerige Lösung von Formaldehyd), wird nur im verdünnten Zustand (1 Teil Formalin + 9 Teile Wasser oder Alkohol, 96 %) gebraucht. Fixierdauer 3—24 Stunden oder länger. Nachhärtung in Alkohol meist entbehrlich, nur bei Karminfärbung nötig (SCHMORL). Es fixiert schnell, seine differenzierende Wirkung ist aber mäßig. Bisweilen ruft es in den Schnitten dunkle Niederschläge hervor, die — namentlich bei Pigmentstudien — sehr störend wirken. Es läßt fast alle Färbemethoden zu, nur die ROMANOWSKY-Färbung mit ihrer „typischen“ roten Chromatintinktion gelingt selten, sobald das Mittel längere Zeit, wie es Schnitte erfordern, eingewirkt hat. Formalinbehandelte Schnitte kommen daher für diese Färbung überhaupt kaum in Betracht, sondern höchstens Trockenausstriche und zwar auch nur dann, wenn sie nicht länger als 2—3 Minuten fixiert und nachher gründlich gewaschen worden sind.

REUTER empfiehlt z. B. die alkoholische Verdünnung als Schnellfixiermittel für Malariablutausstriche (ROMANOWSKY-Färbung),

ROSS zu gleichen Zwecken (Tropfenmethode) ein Gemisch aus Formalin (2 %ig) und Essigsäure (½ %ig).

LEVADITI gebraucht die wässerige Verdünnung (1 Teil Formalin + 10 Teile Wasser) als Fixierungsmittel bei der nach ihm benannten Spirochäten- (Treponema-) Versilberung in Schnitten.

Das Ortsche Gemisch, aus

1 Teil Formalin und

10 Teilen MÜLLER'scher Flüssigkeit (s. S. 13) bestehend, findet auch öfter Verwendung und ist stets frisch zu bereiten, da es schon nach wenigen Tagen verdirbt.

c) **Osmiumsäure** (Osmiumtetroxyd) wird in Form ihrer flüchtigen Dämpfe oder in wässeriger Lösung verwandt. Vor allem sind Mischungen von Osmiumsäure und anderen Fixiermitteln sehr beliebt. Mit der lebenden Zelle in Verbindung gebracht, bringt sie diese augenblicklich zum Absterben und fixiert hierbei

das Plasma, insbesondere auch die sonst sehr leicht deformierbaren lokomotorischen so gut wie kein anderes Mittel. Eine besondere Tiefenwirkung übt sie indessen nicht aus, auch ist die Differenzierung der chromatischen Substanz nicht besonders gut, sofern Osmiumsäure allein angewandt wird. Dagegen leisten einige Gemische auch nach dieser Richtung hin Vorzügliches. Fett wird durch Osmiumtetroxyd — infolge Reduktion zu metallischem Osmium bzw. niederen Oxyden — geschwärzt. Lipoide nehmen dagegen nur einen grauen Farbenton an. Auch in anderem Organmaterial wird die aufgenommene Osmiumsäure, sofern sie allein und nicht in Verbindung mit anderen Fixiermitteln einwirkt, allmählich, im direkten Sonnenlichte schneller unter Schwärzung reduziert. Deshalb ist die Fixierung in solchen Fällen möglichst im Dunkeln vorzunehmen und die überschüssige Säure durch ausgiebiges Nachwaschen mit Wasser zu entfernen. Bereits reduziertes Osmium kann man durch eine Reihe oxydierender Mittel wieder aus den Präparaten entfernen. Näheres hierüber s. Lee und Mayer. Nach eigenen Erfahrungen kommt man hierbei am besten durch mehrstündiges Einwirkenlassen einer frisch verdünnten Lösung des völlig neutralen Perhydrol (Merck) zum Ziel, die 5 % Wasserstoffsuperoxyd enthält.

Osmiumsäuredampf. Vorzüglich für die Fixierung dünner Objekte (Feuchtausstriche) geeignet. Gegenüber den flüssigen Osmiumsäuregemischen hat der Dampf den Vorzug, daß bei seiner Einwirkung Veränderungen durch Osmose vollständig in Wegfall kommen.

Die Fixierung nimmt man am besten in einem ca 10 cm hohen und 5 cm weiten Glaszylinder mit sehr gut eingeschliffenem Stöpsel vor, nachdem man in das Gefäß 0,25 bis 0,5 g kristallisiertes Osmiumtetroxyd und darüber soviel Glasschrot hineingeschüttet hat, daß der Boden des Zylinders hiermit vollständig bedeckt ist. Um einem nutzlosen Entweichen der im übrigen sehr giftigen und die Schleimhäute äußerst stark reizenden Dämpfe bei Nichtbenutzung vorzubeugen, reibt man den Stöpsel mit etwas Vaseline ein. Das Fett absorbiert zwar sehr bald einen Teil des Dampfes unter Schwärzung, nach völliger Sättigung hält sich dafür der Rest der Fixiersubstanz um so besser. Um zu fixieren öffnet man — unter dem Abzuge! — den Stöpsel, führt den frischen, noch feuchten Objektträgerausstrich schnell in den Zylinder ein und schließt das Gefäß sofort wieder. Schon nach wenigen (5—10) Sekunden ist das Material, dessen Feuchtigkeit im geschlossenen Gefäß nur sehr langsam verdunstet, genügend fixiert und kann — am besten unter Nachhärtung in Alkohol steigender Stärke und darauffolgender Eliminierung durch oxydative Mittel — je nach Belieben als Feucht- oder Trockenpräparat weiter behandelt werden.

Osminiumsäuregemische:

Flemmingsches Gemisch:

15 Teile 1 %iger Chromsäure,
4 Teile 2 %iger Osmiumsäure,
1 Teil (oder weniger) Eisessig.

Gibt gute Kern- und Gewebsstrukturen und schwärzt Fettbestandteile. Fixierdauer ½—24 Stunden und länger. Gründlich auswässern und in Alkohol nachhärten! Für Hämatoxylinfärbung wenig geeignet, mehr für eine Anzahl Teerfarbstoffe (Safranin, Gentianaviolett) und Eisenhämatoxylin, nicht für Romanowsky-Färbung.

Altmannsches Gemisch:

Gleiche Teile einer Kaliumbichromatlösung (5 %) und Osmiumsäurelösung (2 %).

Fixiert besonders die Granula sehr gut. Nachbehandlung und Färbung wie bei Flemming's Gemisch. Fixierdauer 24 Stunden.

Hermannsches Gemisch:

15 Teile Platinchloridlösung (1 %ig),
4 Teile Osmiumsäurelösung (2 %ig),
1 Teil Eisessig.

Fixiert Kerne und Plasma ausgezeichnet. Wird wie das FLEMMING'sche Gemisch angewandt, nur muß das Material noch gründlicher (3—12 Stunden in fließendem Wasser) gewässert werden. Färbung am besten mit Safranin oder Gentianaviolett.

Borgertsches Gemisch:

200 ccm gesättigte Pikrinsäurelösung,
10 ccm Platinchloridlösung (wässerige 10 %ig),
2 ccm Eisessig,
25 ccm Osmiumsäurelösung (2 %ig).

Färbung mit Parakarmin oder HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylin.

d) **Chromsäure**

wird in wässeriger oder alkoholischer Lösung von 0,1—1 % angewandt. Sie hat sehr geringes Diffusionsvermögen und daher nimmt das Durchfixieren und ebenso das nachherige Auswaschen der Organstücke sehr viel Zeit in Anspruch. Die Differenzierung der Kerne ist nur mäßig. Die gesamte Prozedur des Fixierens und Auswaschens muß gut vor Licht geschützt vorgenommen werden, da sonst im Präparat unlösliche, sehr störend wirkende Niederschläge entstehen. Auch die chromsauren Salze haben diese Nachteile, z. B. in der MÜLLER'schen Flüssigkeit.

Müllersche Flüssigkeit: Eine Lösung von

2,5 Kaliumbichromat und
1,0 g Natriumsulfat in
100 ccm dest. Wasser.

Sehr brauchbar und vielbenutzt ist dagegen **die Chromsäure und ihre Salze in Verbindung mit anderen Fixiermitteln.** Aus solchen Mischungen besteht z. B.

das Zenkersche Gemisch (s. unter Sublimat),

das Flemmingsche Gemisch (s. unter Osmiumsäure),

die Braßsche Lösung (für Amöbenfixierung):

1 Teil Chromsäure,
1 Teil Eisessig,
1 Teil Platinchlorid,
400—1000 Teile Wasser.

Kaliumbichromatessigsäure nach Tellyesniczky:

3,0 g Kaliumbichromat,
5 ccm Essigsäure,
100 ccm dest. Wasser.

Kleine Objekte werden darin 1—2 Tage fixiert, gut ausgewaschen und durch Alkoholreihe von 15 % an durchgeführt.

e) **Pikrinsäure**

fixiert in konzentrierter wässeriger Lösung (1,25: 100) besonders Kernfiguren recht gut, ruft aber in der übrigen Zelle leicht Mazerationserscheinungen hervor, namentlich wenn die Lösung verdünnt ist. Aus dem gleichen Grunde darf nicht mit Wasser, sondern nur mit Alkohol nachgewaschen werden, und, falls mit diesem nicht länger nachgehärtet wurde, entweder nur mit alkoholhaltigen Farblösungen (Boraxkarmin, Para-

karmin) oder mit solchen rein wässerigen tingiert werden, welche selbst fixierend wirken, wie Karmalaun, Hämalaun (Mayer) u. a.

Eine Eigenschaft hat die Pikrinsäure den meisten anderen Fixiermitteln voraus, das ist ihr großes Permeationsvermögen, welches namentlich bei der Darstellung solcher Zellen von Bedeutung ist, die von Chitinmembranen (Cysten usw.) umgeben sind. Bei derartigen Objekten wird sie deshalb auch am meisten verwandt und zwar in der Regel in Form von Pikrinsäuregemischen, z. B. als

Pikrinessigsäure nach Boveri:

100 Teile konzentrierte wässerige Pikrinsäurelösung,
200 Teile Wasser,
3 ccm Eisessig.

Pikrinschwefelsäure nach Doflein:

1 ccm konzentrierte Schwefelsäure,
100 ccm Pikrinsäurelösung konz. wässerig (besonders für Myxosporidien empfohlen).

Bisweilen wird die fixierende Eigenschaft der Pikrinsäure in sehr zweckmäßiger Weise mit ihrer färbenden verbunden, z. B. bei der von Blochmann modifizierten **van Giesonschen Färbung** (s. S. 24).

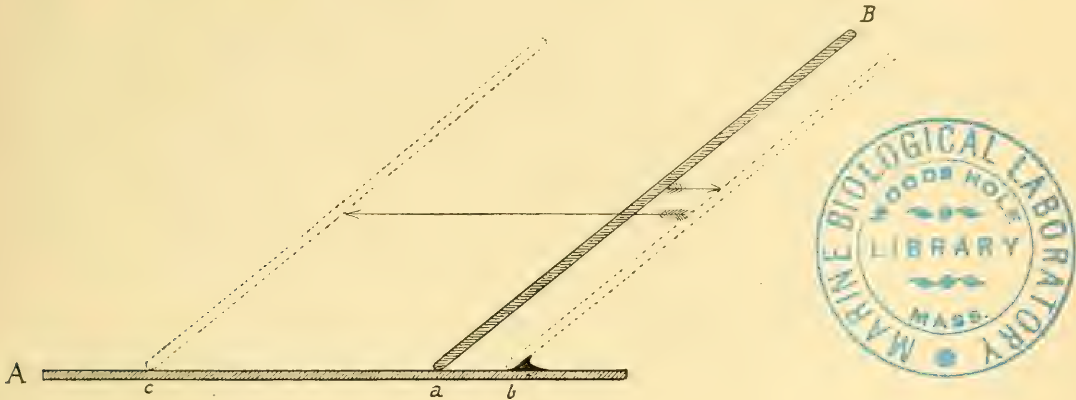
C. Fixierung von Trockenpräparaten.

Bei der Suche nach protozoischen Krankheitserregern kommt es nicht immer auf eine subtil durchgeführte Differenzierung der betreffenden Mikroorganismen an, vielmehr genügt zur Feststellung der vermutlichen Parasiten in vielen Fällen eine Untersuchung nach Methoden, bei denen der Gesamthabitus des Erregers genügend erhalten bleibt und die im Interesse einer raschen Diagnosestellung schnell zu Resultaten führen. Nach dieser Richtung bewähren sich die sog. Trockenausstriche vorzüglich.

Sie werden in ganz ähnlicher Weise hergestellt wie die von Rob. Koch in die Bakteriologie eingeführten Deckglastrockenausstriche: Man bringt das — ev. mit physiologischer Kochsalzlösung oder sterilisiertem Leitungswasser verdünnte, flüssige oder halbflüssige Material (Gewebssaft, Reizserum usw.) mit Hilfe einer ausgeglühten Platinöse auf ein fettfreies Deckgläschen oder einen Objektträger, breitet es dort in möglichst dünner Schicht aus und läßt es lufttrocken werden. Klatschpräparate, die man von frischer Schnittfläche protozoenhaltiger Organe u. dgl. gewonnen hat, läßt man in situ eintrocknen. Die lufttrockenen Präparate werden darauf endweder in Alkohol oder Alkohol-Äther āā, Methylalkohol usw. nachfixiert und dann gefärbt. Ein großer Vorgang dieser Präparate gegenüber feuchten besteht darin, daß infolge Fortfalls chemisch wirkender Fixierungsmittel die ursprünglich vorhandene Affinität der Zellelemente zu den Farbstoffen erhalten bleibt, und die Entstehung chromophiler Niederschläge möglichst vermieden wird. In Einzelfällen kann man den lufttrockenen Ausstrich auch in der Hitze nachfixieren, wodurch eine Nachhärtung durch Alkohol überflüssig wird. Dies geschieht gewöhnlich im Heißluftschrank (½—2 Stunden bei 110—120°). P. Ehrlich hat einen hierfür sehr brauchbaren Apparat angegeben, der durch die Dämpfe verschiedener, bei bestimmten Hitzegraden siedender Flüssigkeiten auf beliebige konstante Temperaturen gebracht werden kann. Die Fixierung durch Hitze wird besonders dort empfohlen, wo es auf die Darstellung gewisser in Alkohol usw. löslicher Zellbestandteile ankommt. Im allgemeinen aber erzielt man bei der Nachhärtung durch die erwähnten flüssigen Medien eine bessere Konservierung. Bei manchen auf 120° erwärmten Objekten (Vogelblut) konnte z. B.

nach eigener Erfahrung ein Austritt von Chromatinmassen aus dem Zellkern beobachtet werden, ein Vorgang, der dem Anschein nach auf ein Schmelzen lipoider Substanzen zurückzuführen war.

Besondere Beachtung verdient die Herstellung der **Bluttrockenausstriche**, welche infolge der in den letzten Jahren erfolgten Entdeckung überaus mannigfacher Arten prorozoischer Blutschmarotzer heute eine bedeutsame Rolle spielen.



Sie werden am besten nicht auf Deckgläschen, sondern auf Objektträger bereitet. Man verfährt hierbei folgendermaßen. In eine für die Blutentnahme besonders geeignete, mit Alkohol-Äther gut gereinigte Stelle (Fingerbeere, Ohrläppchen usw.), wird eine Inzision mittels eines Lanzettenschneppers (sog. Franke'schen Nadel) oder einer Impffeder (Heintze und Blanckerts, Berlin) gemacht. Einen „kleinen" frisch aus dem Einschnitt hervorquellenden Blutstropfen — den ersten wische man fort — bringt man durch Berührung mit einem f e t t f r e i e n Objektträger A (s. Figur) etwa auf dessen Stelle b und führt die schmale Kante eines zweiten g e s c h l i f f e n e n Objektträgers B etwa von der Stelle a aus soweit an den Blutstropfen heran, bis dieser adhäriert und sich ziemlich über die ganze Kante hin verteilt. Darauf läßt man den Objektträger B in schräger Haltung langsam etwa bis c gleiten, wobei sich das Blut in sehr gleichmäßig dünner Schicht und ohne daß Blutkörperchen und Parasiten gequetscht werden, auf der ganzen Fläche des unteren Objektträgers ausbreitet. Durch schnelles Hin- und Herschwenken des letzteren in der Luft erzielt man ein fast augenblicklichres Eintocknen des Ausstriches. In guten Präparaten, die man bei einiger Übung stets erzielt, müssen die Blutkörperchen zum größten Teil einzeln nebeneinander liegen und dürfen keine auffallenden Schrumpfungs- oder Verzerrungserscheinungen (Stechapfelformen u. dgl.) zeigen. Die Konservierung der Parasiten ist dann gewöhnlich auch eine recht gute und reicht für diagnostische Zwecke in der Regel vollkommen aus.

Methode des „dicken Tropfens".

Eine andere Blutuntersuchungsmethode ist von Ross-Ruge für die Diagnose der Malaria angegeben worden.

Ross breitet einen „großen" Blutstropfen auf dem Objektträger auf einer Fläche von etwa Markstückgröße aus, läßt antrocknen und legt dann das Präparat, ohne es zu fixieren bis zur völligen Lösung des Hämoglobins (ca. ¼ Std.) in eine wässerige 1 %ige Eosinlösung. Hiernach wird vorsichtig mit Wasser abgespült und ohne zu fixieren, in einer alkalischen Methylenblaulösung, wie sie früher zur Romanowsky-Färbung benutzt wurde (siehe Nocht'sche Färbung) gefärbt. Ruge hat das Ausziehen

des Hämoglobins zugleich mit einer Fixierung verbunden. Er legt die lufttrockenen Präparate in eine ½—2 % ige wässerige Formalinlösung, der er ½—1 % Essigsäure zusetzt. Hierauf färbt er nach Manson oder Giemsa. Andere Autoren lassen den Ausstrich nur gut antrocknen (am besten 1 Std. und länger im Brutschrank bei 37°) und färben dann entweder ohne zu fixieren (Dempwolff) oder nach kurzer Alkoholhärtung (Schilling) nach Giemsa.

Der Vorteil des Dicktropfenverfahrens liegt darin, daß man in jedem Gesichtsfelde weit mehr Blutkörperchen als sonst beobachten kann, so daß dem Beobachter die Parasiten in nur schwach infiziertem Blut nicht so leicht entgehen. Die kaum gefärbten Stromata der Erythrocyten gewähren einem hierbei einen Durchblick durch die ganze Dicke des Präparates und die Parasiten heben sich im allgemeinen gut ab, wenn auch die Erhaltung ihrer Form manches zu wünschen übrig läßt. Von Robert Koch wurde die Methode gelegentlich der von ihm unternommenen Schlafkrankheitsexpedition mit bestem Erfolge auch zum Nachweis von Trypanosomen im Menschenblut angewandt und die Parasiten konnten bei schwacher Infektion auf diese Weise viel schneller und sicherer nachgewiesen werden als mit der gewöhnlichen Ausstrichmethode.

Aufbewahrung ungefärbter und gefärbter Ausstriche.

Ausstriche, die nicht sofort sondern erst nach längerer Zeit gefärbt werden sollen, hüllt man, nachdem sie lufttrocken geworden sind, in Fließpapier ein und bewahrt sie in sehr gut schließenden Zylindern über wasserentziehenden mit Watte überschichteten Substanzen (Chlorkalzium, gebrannter Kalk) auf. Während die Färbbarkeit der Präparate sonst, besonders in feuchtem Klima, sehr bald nachläßt, wird sie bei dieser Art der Aufbewahrung viele Jahre hindurch erhalten. Dies bezieht sich insbesondere auf die Darstellbarkeit der Kerne und Geißeln bei der Romanowsky-Färbung. Auch bereits gefärbte, vom Öle befreite und vor Licht genügend geschützte Ausstrichpräparate behalten in solchen Trockenbehältern ihre Farben viel länger als sonst.

III. Färbung.

A. Einteilung der Farbstoffe.

Die nachstehende Klassifizierung der Farbstoffe beruht auf dem „chemisch-histologischen“ Prinzip. Die „rein chemische“ Einteilung, für die der genaue chemische Aufbau des Farbkörpers, seine Konstitutionsformel maßgebend ist, konnte nicht berücksichtigt werden. Eingehendes hierüber findet man in den einschlägigen Lehrbüchern von Nietzki und Georgiewics, ferner in den Monographien von Pappenheim und L. Michaelis, in denen insbesondere auch die Beziehungen der histologischen Färbung zur Konstitution der Farbstoffe tunlichst berücksichtigt sind.

Die histologisch-chemische Einteilung baut sich auf der Erfahrung auf, daß Zellkern und Zellplasma verschiedene Affinitäten gegenüber zwei großen Gruppen von Farbstoffsalzen besitzen, deren färberisch wirksame Komponenten chemisch als Farbbasen bzw. Farbsäuren charakterisiert sind. Diese werden vorzugsweise vom Cytoplasma, jene von den Zellkernen gebunden. Hiernach werden die Farbstoffe in die beiden Hauptklassen der „basischen oder Kernfarbstoffe“ und der „sauren oder Plasmafarbstoffe“ eingeteilt. Man bedient sich aber der Farbstoffe in der Regel nicht in Form der freien Basen oder Säuren, da diese im

Wasser meist sehr schwer löslich sind, sondern in Form der hierin leichter löslichen Salze. Unter **basischen Farbstoffen** versteht man daher allgemein solche Farbsalze, die aus einer Farbbase und einer ungefärbten Säure bestehen. So z. B. bezeichnet man das salzsaure Methylenblau — gewöhnlich kurz „Methylenblau" genannt — als basischen Farbstoff, da er ein Produkt aus der gefärbten Methylenblaubase und dem farblosen Chlorwasserstoff ist.

Bei den **sauren Farbstoffen** z. B. beim eosinsauren Kalium — gewöhnlich „Eosin" genannt — ist das Umgekehrte der Fall, d. h. der saure Anteil des Salzes, die Eosinsäure bildet den Farbstoff und der basische, das Kalium, ist ungefärbt.

Von basischen Farbstoffen finden in der mikroskopischen Technik hauptsächlich folgende Verwendung: Fuchsin, Pyronin, Dahlia, Methylviolett, Gentianaviolett, Bismarckbraun, Methylenblau, Kresylviolett, Thionin, Methylenazur, Tolnidinblau, Safranin, von sauren: Eosin, Orange G, Säurefuchsin, Kristallponceau, Anilinblau (wasserlöslich), Indulin, Nigrosin.

Neutrale Farbstoffe nennt EHRLICH solche Farbsalze, bei denen sowohl die basische wie saure Komponente aus „Farbstoff" bestehet. In diese Klasse gehört z. B. das eosinsaure Methylenblau und das eosinsaure Methylenazur, ferner eine Mischung aus gleichen Teilen dieser beiden Neutralsalze, welche unter dem Namen Azur II-Eosin bekannt ist.

Indifferente Farbstoffe. Unter diesem Namen faßt L. MICHAELIS eine Reihe von Farbstoffen zusammen, welche infolge Mangel salzbildender Gruppen weder ausgesprochenen Säure- noch Basencharakter besitzen. Sie sind ausnahmslos in Wasser unlöslich, ziemlich löslich in Alkohol und ätherischen Flüssigkeiten und besonders leicht in fetten Ölen. Aus diesem Grunde sind sie z. T. beliebte Fettfarbstoffe. Als wichtigste Repräsentanten dieser Gruppe sind zu nennen: Sudan III und Scharlach R (sog. Fettponceau).

In Anbetracht der Tatsache, daß es mehrbasische Farbsäuren oder mehrsäurige Farbbasen gibt, welche sich gegenseitig in verschiedenen Verhältnissen chemisch zu binden und — sofern man zu ihrer Herstellung von den freien Farbbasen bzw. säuren ausgeht — saure, neutrale und ev. basische Salze zu bilden imstande sind, erscheint der Ausdruck „neutraler" Farbstoff, mit dem wir zurzeit jedes aus einer Farbsäure und Farbbase bestehendes Salz belegen, änderungsbedürftig. Er ließe sich besser durch den Ausdruck **„amphochromer Farbstoff (oder amphochromes Farbsalz)** ersetzen. Die verschiedenen bildungsfähigen Salze könnte man dann als saure, neutrale oder basische amphochrome Salze bezeichnen, während der jetzige Ausdruck „neutraler Farbstoff" eine solche Differenzierung nicht zuläßt.

Ebenso würde es dem Sinn besser entsprechen, wenn man die bisherigen Bezeichnungen „saure bezw. basische" Farbstoffe durch **„acidochrome** bzw. **basochrome" Farbstoffe** ersetzte.

Der Ausdruck „neutraler" Farbstoff könnte dann für solche einfache Farbstoffe gebraucht werden, die weder ausgesprochenen Säure- noch Basencharakter aufweisen d. h. also für die jetzigen indifferenten Farbstoffe von MICHAELIS.

Natürliche Farbstoffe. Sie werden von Tier und Pflanze erzeugt und finden sich überall in der Natur vor. Ihre chemische Konstitution ist zum größten Teil noch wenig erforscht. In der Histologie finden nur sehr wenige Verwendung, diese spielen dafür aber eine um so hervorragendere Rolle und zwar namentlich als sog. Beizenfarbstoffe. Zu ihnen gehört in erster Linie das Hämatoxylin und Carmin, zwei ausgezeichnete Kernfarbstoffe.

B. Theorie der Färbung.

Die seit langem und lebhaft erörterte Frage, ob der Färbeprozeß als chemischer oder physikalischer Vorgang aufzufassen sei, ist nach wie vor vielumstritten. Noch heute gibt es Verfechter der rein chemischen Theorie, welche bei der Färbung eine echte Salzbildung zwischen Farbstoff und Faser annehmen als auch Vertreter der rein physikalischen Auffassung, welche in dem Färbeprozeß lediglich Adsorptionsvorgänge erblicken, vermöge deren das ganze Farbsalz als solches rein mechanisch von der Faser festgehalten wird. Eine besondere Theorie des Färbeprozesses ist von Witt aufgestellt worden, der die (substantive) Färbung als sog. „starre Lösung" ansieht. Witt nimmt hierbei an, daß der Farbstoff im Gewebe dieselbe Rolle spielt wie ein gelöster Körper in seinem Lösungsmittel, wobei die Lösung als chemische Verbindung in weiterem Sinne anzusehen sei. Die Färbung wäre hiernach also eine Lösungserscheinung, bei der die Faser den Farbstoff leichter löst als Wasser. Zu Anhängern der chemischen Theorie haben sich von Histologen u. a. Ehrlich, Mayer, Flemming, Unna, Benda bekannt, zu solchen der physikalischen Auffassung besonders Fischer. Da im Laufe der letzten Jahre der experimentelle Beweis erbracht wurde, daß gewisse Färbungen ebenso sicher chemischer Natur sind, wie andere physikalischer, so ist der Schluß wohl berechtigt, daß wir es bei unseren histologischen Tinktionen, bei denen die Farbstoffe auf eine Reihe physikalisch wie chemisch heterogenster Zellelemente gleichzeitig einwirken, stets mit beiden Prozessen zu tun haben. Diese vermittelnde Stellung ist seit einiger Zeit übrigens auch schon von einer Reihe von Autoren eingenommen worden, unter anderen auch von Michaelis, der die physikalische Färbung sehr treffend mit dem Namen „Insorption", die chemische mit „Injunktion" bezeichnete.

Eine Grundlage für die Erklärung der Wirkungsweise von Kernfarbstoffen dürfte vielleicht folgende von Giemsa gemachte Beobachtung geben.

Durch Liebermann und Ascoli ist es sehr wahrscheinlich gemacht worden, daß die zum größten Teil aus Nucleo- oder Paranucleoproteiden bestehende Kernsubstanz ihren Phosphor, an dem sie ja bekanntlich sehr reich ist, zum Teil in Form von Metaphosphorsäure enthält. Giemsa konnte ferner feststellen, daß die in der Histologie gebräuchlichen basochromen, substantiven Anilinfarbstoffe mit glasiger Metaphosphorsäure — beides in frischer wässeriger Lösung — Niederschläge von metaphosphorsauren Farbsalzen geben, die in dem Reaktionsgemisch um so unlöslicher sind, je intensiver der entsprechende Farbstoff die Kerne färbt. Da diese Reaktion nur mit der Meta-, nicht dagegen mit der Ortho- und Pyrophosphorsäure erfolgt, besitzen wir in ihr direkt ein Mittel, um einerseits Metaphosphorsäure als solche von den beiden anderen Phosphorsäuren unterscheiden und andererseits einen Farbstoff bereits in vitro auf seine Brauchbarkeit als substantiven Kernfarbstoff prüfen zu können. In gleicher Weise, wie die Metaphosphorsäure, wird auch wassergelöste Nucleinsäure und nucleinsaures Natron (Böhringer) durch die betreffenden Farbstoffe gefällt. Dieses auffallend übereinstimmende Verhalten der Farbstoffe gegenüber der Metaphosphorsäure und der Zellkernsubstanz dürfte einerseits für die Richtigkeit der Befunde von Liebermann und Ascoli, anderseits dafür sprechen, daß wir es bei der Kernfärbung in der Hauptsache mit einer durch den Metaphosphorsäuregehalt bedingten „Injunktionsfärbung" zu tun haben. Es ist ferner bemerkenswert, daß die durch Kernfarbstoffe gar nicht oder höchstens nur andeutungsweise färbbaren Albumine (pukallfiltriertes Serum- oder Eieralbumin) als künstliche Nucleoproteide im Sinne Liebermann's und Pohl's (durch Fällen von Albumin usw. mit PHO_3 und Waschen des Niederschlages erhalten) sich auf das Intensivste mit diesen Farbstoffen,

und zwar in den sonst bei den Kernchromatinfärbungen wahrnehmbaren Farbnuancen tingieren lassen. Im Zusammenhange hiermit sei auch auf eine interessante Arbeit Reichenow's hingewiesen, der in sehr exakten Versuchen feststellen konnte, daß die bei Haematococcus pluvialis gewöhnlich vorhandenen, durch Kernfarbstoffe leicht tingierbaren Volutine [1]) zum Verschwinden gebracht wurden bzw. ihre spezifische Färbbarkeit einbüßten, sofern die Flagellaten einige Zeit in phosphorfreier Nährlösung gezüchtet wurden.

Es ist zu hoffen, daß wir durch die zurzeit im Gange befindlichen sehr verdienstvollen Arbeiten von Neuberg und Pollack, welche die Synthese von Kohlehydrat-Phosphorsäureestern und die Phosphorylierung von Eiweiß usw. zum Gegenstand haben, bald sicheren Aufschluß über die bisher unbekannte Bindungsart der Phosphorsäure in den Proteinen erhalten und im Anschluß daran vielleicht auch ein Untersuchungsmaterial, an dem sich diese wichtigen färberischen Fragen zur Entscheidung bringen lassen.

C. Chemische Natur der Zelleinschlüsse.

Über die chemische Natur der Zelleinschlüsse wissen wir noch recht wenig. Wir müssen dies darauf zurückführen, daß in der modernen Eiweißchemie, bei welcher die Differenzierung der Proteinstoffe durch „Abbau“ eine große Rolle spielt, auf die einzelnen Zellelemente, wie sie uns das mikroskopische Bild zeigt, noch gar nicht Rücksicht genommen worden ist. Die außerordentliche Schwierigkeit, mit der eine Isolierung derartiger Einschlüsse verbunden ist, läßt dies ohne weiteres erklärlich erscheinen So hat man z. B. die Kernsubstanzen als sehr phosphorreiche, mit ganz charakteristischen Reaktionsfähigkeiten ausgestattete Körper aus der Nucleo- und Paranucleoproteidreihe diagnostiziert, ihre „eingehendere“ chemische Untersuchung bezieht sich aber immer nur auf den Kern in toto bzw. auf Bestandteile desselben, die mit Hilfe gröberer chemischer oder physikalischer Eingriffe in vitro leicht als artverschieden zu erkennen und zu isolieren sind. Ähnlich steht es mit dem Cytoplasma. Der histologischen Forschung ist bislang hierdurch noch nicht allzu viel geholfen, denn die mikroskopische Beobachtung der panoptisch gefärbten Zelle lehrt uns, daß z. B. der Kern aus einer ganzen Reihe von Substanzen zusammengesetzt ist, die nicht nur morphologisch, sondern färberisch scharf differenzierbar sind und deren verschiedenes Elektionsvermögen gewissen Farbstoffkompositionen gegenüber mit Sicherheit auch auf die Verschiedenheit ihrer chemischen Natur hinweist.

In Anbetracht der nur sehr langsamen Fortschritte, welche auf dem schwierigen Gebiet der Eiweißchemie gemacht werden, dürfte kaum Hoffnung vorhanden sein, in absehbarer Zeit einen tieferen Einblick in den Chemismus der überaus mannigfachen und der näheren Untersuchung schwer zugänglichen Zellbestandteile zu bekommen. Bei dem berechtigten Bestreben, einzelne in individuell verschiedenen Zellen regelmäßig wiederkehrende Einschlüsse ähnlicher Art zu klassifizieren, waren daher auch in erster Linie **morphologische und entwicklungsgeschichtliche** Gesichtspunkte maßgebend. Die **chemische** Differenzierung beschränkte sich hierbei fast ausschließlich auf Prüfung des Verhaltens gegenüber peptischen oder tryptischen Verdauungsflüssigkeiten sowie gegenüber sonstigen plasmolytisch bzw. karyolytisch wirkenden Substanzen (Gallensalze, Saponine u. a.), auf den qualitativen Nachweis einiger Ele-

[1]) Nach Arthur Mayer, Nucleinsäureverbindungen, die als Reservestoffe der Zelle aufzufassen sind.

mente (Phosphor, Eisen), ferner auf Reaktionen mit Farbstoffen.[1]) Auf Grund derartiger Untersuchungen sind z. B. die in der Protistenlehre häufig gebrauchten Ausdrücke: Linine, Chromatine und Plastine entstanden.

Als **Linine** (Achromatin) wird die das Kerngerüst bildende, mit dem achromatisch plasmatischen „Reticulum" CARNOY's als identisch anzusehende Substanz angesehen, welche zu den acidochromen (sauren) Farbstoffen besondere Affinität besitzt (PROWAZEK). Sie schließt in ihren Alveolen den unfärbbaren Kernsaft ein.

Unter **Chromatin** — von manchen Histologen auch Basichromatin genannt — versteht man jene Kernsubstanz, die sich durch eine große Verwandtschaft zu den basochromen (basischen) Farbstoffen auszeichnet. Von Azureosin wird es leuchtend rotviolett tingiert. Die Chromatine werden chemisch als die Träger des Kernphosphors und zwar in der Hauptsache als Nucleoproteide aufgefaßt.

Die **Plastine** bilden (nach PROWAZEK) die Hauptsubstanz der Innenkörper oder Karyosomen und entsprechen ungefähr den Nucleolarsubstanzen. Dem Eisenhämatoxylin gegenüber behaupten sie selbst bei intensivem Differenzierungsverfahren die höchste Affinität. Bei Feuchtpräparaten, die nach GIEMSA (s. S. 26) bereitet sind, erscheinen sie nach längerer Differenzierung in reinblauem Tone, und heben sich vom rotvioletten Kernchromatin deutlich ab. Nach RUZICKA gehören die Plastine mehr auf die Seite der Albuminoide als auf die der Nucleine. Näheres über ihre Natur sowie die des Chromatins und Linins siehe bei ZACHARIAS und SCHWARZ.

D. Einteilung der Färbemethoden.

1. Substantive und adjektive Färbung.

Substantiv nennt man eine Färbung dann, wenn das Objekt den Farbstoff unmittelbar aus dessen Lösung annimmt, **adjektiv oder Beizenfärbung** dagegen, wenn die Tinktion unter Einwirkung eines die Färbung vermittelnden Stoffes, der sog. Beize erfolgt. Hierbei ist es gleichgültig, ob das Objekt mit der Beize vor dem eigentlichen Färbeakt behandelt wird oder ob diese zusammen mit dem Farbstoff als sog. „Farblack" zur Anwendung gelangt.

Als Beizen für acidochrome (saure) Farbstoffe kommen hauptsächlich Metallsalze in Betracht, besonders die des Aluminiums, Eisens, Chroms, Zinks, als solche für basochrome vornehmlich die Gerbsäure und zwar entweder allein oder mitunter auch, wie z. B. bei der LÖFFLER'schen Geißelfärbung in Verbindung mit Eisensalz (als Eisentinte).

Analog der Färbung teilt man auch die entsprechenden Farbkörper selbst in substantive und adjektive (Beizenfarbstoffe) Farbstoffe ein. Auf die Theorie der Beizenwirkung soll hier nicht näher eingegangen werden. Ausführliche Angaben hierüber sind unter anderen bei PAPPENHEIM und MICHAELIS zu finden.

2. Progressive und regressive Färbung.

Die Tinktion der Zelle kann auf progressivem oder regressivem Wege erfolgen.

Progressive Färbung. Progressiv nennen wir eine Färbung dann, wenn wir die Farblösungen nur so lange auf das Objekt einwirken lassen, bis die durch besondere Affinität zum Farbstoff ausgezeichneten Zellbestandteile genügend tingiert

[1]) Eine vorzügliche Übersicht über eine Reihe der wichtigeren Arbeiten auf dem Gebiete der cytochemischen Forschung und zugleich eine kritische Würdigung ihres Inhaltes verdanken wir E. ZACHARIAS.

sind, während andere, den Farbstoff schwerer aufnehmende Einschlüsse noch un- oder sehr schwach gefärbt erscheinen. Bei dieser Färbung wird man daher in jedem einzelnen Falle solche Farbstoffe bevorzugen, welche eine maximale Verwandtschaft gerade zu jenen Elementen besitzen, die man tinktoriell besonders hervorzuheben wünscht. Bei geeigneter Wahl von Farbstoffen oder Farbstoffgemischen ist man auf diese Weise oft imstande, bestimmte Einschlüsse plasmatischer oder Kernnatur, oft auch beide zugleich sehr gut zu differenzieren.

Regressive Färbung. Bei diesem Verfahren dehnt man den Färbeprozeß so lange aus, bis sämtliche überhaupt färbbare Bestandteile mit Farbstoff übersättigt sind und das Bild der diffusen Überfärbung zeigen. Man differenziert erst nachträglich und zwar dadurch, daß man das Objekt mit farbstoffentziehenden Mitteln zum Zwecke einer teilweisen Entfärbung behandelt. Diese kann wiederum, ähnlich wie der Färbeprozeß selbst mehr auf chemischem oder physikalischem Wege vor sich gehen. In ersterem Falle nennt man sie Exjunktion, in letzterem Exsorption (Michaelis). Eine chemische Wirkung nimmt man bei der Nachbehandlung mit Säuren und Alkalien an, eine mechanische bei der Anwendung indifferenter Extraktionsmittel wie Alkohol, Äther, Aceton, Glycerin. Von der Widerstandsfähigkeit gegen derartige entfärbenden Agentien leitet sich der Begriff der „Echtheit der Farbstoffe“ ab.

3. Singuläre und panoptische (polychromatische) Färbung.

a) **Singuläre Färbung.** Die Färbung mit einem einzigen einfachen (acidochromen oder basochromen) Farbstoff nennt man singuläre Färbung. Im allgemeinen (Ausnahmen siehe weiter unten) fällt sie „**monochromatisch**“ aus und erstreckt sich bei Benutzung acidochromer Farbsalze vornehmlich auf die plasmatischen, bei Verwendung basochromer auf die Kernelemente der Zelle. Hierbei ist zu bemerken, daß die acidochromen Farbstoffe in der Regel bei Zusatz von Alkali, die basochromen bei einem solchen von Säure intensiver färben als in neutraler Lösung.

Von großer Bedeutung für die Cytologie sind einige einfache basochrome Farbstoffe geworden, welche trotz ihrer einheitlichen chemischen Zusammensetzung die Fähigkeit besitzen, verschiedenartige Zellbestandteile „**metachromatisch**“, d. h. in mehreren, bisweilen ziemlich kontrastreichen Nuancen zu färben. Unter den Farbkörpern, welchen diese Eigenschaften zukommen, verdienen in erster Linie genannt zu werden das Thionin und einige seiner Abkömmlinge z. B. Methylenazur, Toluidinblau, Gentianablau, ferner Safranin und Methylviolett. Das Thionin und seine zitierten Verwandten haben gemeinsam die Eigenschaft, die Kerne blau bis blauviolett, Schleim violett und die Mastzellengranula (letztere namentlich aus schwach alkalischer Farbflotte) intensiv rot zu färben. Das Safranin färbt Schleim gelb, die Kerne rot, das Methylviolett amyloide Substanzen rot, die Kerne violett. Bei einigen dieser Farbstoffe, die ja gewöhnlich nur technische Ware von mäßiger Reinheit vorstellen, ist es allerdings noch nicht sicher erwiesen, ob ihre sog. metachromatische Wirkung nicht etwa auf eine Verunreinigung durch andere Farbkörper zurückzuführen ist. Daß metachromatische Eigenschaften jedoch auch chemisch einheitlichen Körpern zukommen, hat Giemsa durch Versuche mit chemisch absolut reinem, durch wiederholtes Umkristallisieren gewonnenen Methylenazur feststellen können. Man ist somit zu der Annahme berechtigt, daß die Metachromasie — soweit sie wenigstens durch die genannten Thioninabkömmlinge hervorgerufen wird, eine „typische“, von Verunreinigungen völlig unabhängige Wirkung dieser Farbstoffe ist.

Über das Wesen der Metachromasie ist häufig diskutiert worden, ohne daß die Frage erheblich geklärt worden wäre. Am wenigsten bewiesen sind die Anschauungen jener Autoren, welche das Phänomen auf tiefergreifende chemische Vorgänge zurückführen, die sich zwischen Farbstoff und Zelle abspielen sollen. Dagegen scheint die von einigen Forschern ausgesprochene Ansicht, daß die Erscheinung auf einer tautomeren Umlagerung des betreffenden Farbkörpers beruht, sehr viel für sich zu haben. Daß manche Farbstoffe durch bloße Änderung ihrer indifferenten Lösungsmittel die Farbe in sehr ausgesprochener Weise variieren können, kann man in sehr instruktiver Weise an Versuchen mit chemisch reinem Methylenazur-Chlorhydrat demonstrieren.

Stellt man eine ganz dünne, in Reagenzglasdicke eben noch durchscheinende wässerige Lösung dieses Salzes her, füllt drei größere Reagenzgläser bis zu $1/3$ hiermit, setzt die Farbbase durch Hinzufügen einiger Tropfen sehr verdünnter Natronlauge in Freiheit und schüttelt das eine Glas mit Petroläther, das zweite mit Äthyläther, das dritte mit Chloroform aus, so geht die freie Base mit 3 gänzlich voneinander verschiedenen Farben in die hinzugefügten Medien über und zwar in Petroläther mit strohgelber, in Äthyläther mit roter, in Chloroform mit violetter. Gießt man darauf zu den einzelnen Gemischen Salzsäure in geringem Überschuß hinzu und schüttelt wieder kräftig durcheinander, so bildet sich in jedem Falle wieder Azurchlorhydrat, welches mit reinblauer Farbe vom Wasser aufgenommen wird. Durch abwechselndes Alkalisieren bzw. Ansäuern und Aufschütteln läßt sich der Versuch beliebige Male wiederholen. Es ist wahrscheinlich, daß diese Metachromasie, die wir hier in vitro erzielen und die wir kaum anders, als eine durch das betreffende Lösungsmittel bedingte vorübergehende Umlagerung von Atomgruppen innerhalb des Farbstoffmoleküls (Tautomerie) auffassen können, mit der metachromatischen Färbung mikroskopischer Präparate in enger Beziehung steht. Die mehrfach vertretene Ansicht, daß auch das Methylenblau metachromatisch wirke, ist als irrig zu bezeichnen, ebenso wie diejenige, daß Methylenblau ein hervorragender Kernfarbstoff sei. In allen Fällen, wo hiermit Metachromasie erzielt wird, hat man dies nicht der Wirkung des Methylenblaus, sondern der des Methylenazurs zuzuschreiben, welches aus ersterem beim sog. „Reifen“ infolge der Wirkung absichtlich zugesetzten oder vom Glase stammenden Alkalis allmählich entsteht. Auch die Intensität der Kernfärbung, die mit Hilfe solcher Lösungen erreicht wird, ist vornehmlich der Anwesenheit des Methylenazurs zu verdanken.

b) Panoptische (polychromatische) Färbung.

Bei der panoptischen Färbung kommen im Gegensatz zur singulären m e h r e r e Farbstoffe zur Wirkung und zwar kann man hierbei die einzelnen einfachen Farbkörper nacheinander oder gleichzeitig auf das Objekt einwirken lassen. Im ersteren Falle spricht man von einer „**Sukzessivfärbung**“, im letzteren von einer „**Simultanfärbung**“. Um eine tinktorielle Differenzierong möglichst aller Zellbestandteile zu erzielen, werden in der Regel sowohl Kern wie Plasmafarbstoffe benutzt und unter ihnen mit Vorliebe wieder solche, die bezüglich ihres Farbentones möglichst miteinander kontrastieren. Bei weitem seltener sucht man einen polychromatischen Efekt entweder nur durch Kern- oder nur durch Plasmafarbstoffe verschiedener Art zu erzielen

Von außerordentlicher Bedeutung für die Protozoenforschung ist die „Simultanfärbung“ geworden und zwar haben sich hierbei als besonders wertvoll jene zusammengesetzten Farbstoffe erwiesen, die wir als „amphochrome“ Farbsalze (sog. „neutrale“ Farbsalze Ehrlich's) kennen gelernt haben. So beruht z. B. die Giemsa-Färbung (modifizierte Romanowsky-Färbung) auf einer Simultanfärbung mittels der amphochromen Salze Methylenazur-Eosin und Methylenblau-Eosin. Eine be-

sonders wichtige Rolle spielt hierbei erstgenanntes Salz, dessen basische Komponente, das Methylenazur, für die typische leuchtend rotviolette Färbung der Chromatinbestandteile unbedingt erforderlich ist und das durch seine stark metachromatische Wirkung auch sonst wesentlich zur Entstehung des farbenreichen Romanowsky-Bildes beiträgt.

E. Färbevorschriften.

Am einfachsten gestaltet sich in der Regel die

1. Singuläre Färbung mit den „einfachen" (acidochromen oder basochromen) Anilinfarbstoffen.

Man hält gewöhnlich konzentrierte alkoholische, seltener wässerige Stammlösungen der Farbstoffe vorrätig, färbt aber nur mit Verdünnungen. Die **wässerigen** Stammlösungen versetzt man, um Bakterienwachstum zu verhindern, mit keimtötenden Mitteln. Die gebrauchsfertigen verdünnten Lösungen stellt man her, indem man so viel der Stammlösung in destilliertes Wasser hineinfiltriert, bis dieses in Reagenzglasdicke eben anfängt undurchsichtig zu werden. Benutzt man zum Verdünnen anstatt destillierten Wassers Anilin- oder (0,5—5 %iges) Karbolwasser, so erzielt man in der Regel stärkere Färbeeffekte. Eine Reihe hierher gehöriger, besonders in der Bakteriologie gebrauchter Spezialvorschriften findet man in den bakteriologischen Lehrbüchern, in besonders knapper und übersichtlicher Form in dem rühmlichst bekannten Taschenbuch von Abel.

Die Wirkung der Farbstoffe kann auch noch durch andere Medien verstärkt werden und zwar die der basochromen Farbsalze, in der Regel durch Zusatz von Alkalien (Borax, Natriumkarbonat usw.), die der acidochromen durch Säuren (Ameisensäure, Essigsäure usw.). Hierbei ist zu bemerken, daß durch die chemische Wirkung derartiger Mittel bisweilen neue Farbstoffderivate in den Lösungen entstehen können (vgl Mansonsche und Romanowsky-Färbung).

Die singulare Färbung mit Teerfarbstoffen gestattet im allgemeinen ziemlichen Spielraum bezüglich der Auswahl von Fixiermitteln. Nur nach sehr langer Einwirkung von Chromsäure und deren Salzen (Müller'scher Flüssigkeit) erzielt man mitunter schlechte Färberesultate.

Beliebte einfache **Kernfarbstoffe** sind: Fuchsin, Pyronin, Gentianaviolett, Methylviolett, Bismarckbraun, Dahlia, Methylenblau, Kresylviolett (R. extra), Thionin, Methylenazur, Toluidinblau, Safranin. Die fünf letztgenannten hiervon wirken metachromatisch.

Plasmafarbstoffe: Eosin, Orange G, Säurefuchsin, Kristallponceau, Anilinblau (wasserlöslich), Indulin, Nigrosin.

2. Panoptische (polychromatische) Simultan- und Successivfärbung sowie Beizenfärbungen:

Mansonsche Färbung.

Farb-Stammlösung: In 100 ccm kochendes Wasser wird zunächst 5,0 g Borax und darauf 2,0 g Methylenblau (med. Höchst) gelöst. Die Lösung wird im Reagenzglas so stark verdünnt, bis sie soeben anfängt durchscheinend zu werden. Man färbt 10 bis 15 Sekunden. Die Methode wird vornehmlich für die Schnelldiagnose bei Malaria verwandt. Die Kernfärbung erfolgt bei diesem Verfahren in erster Linie durch das aus dem Methylenblau infolge der Alkaliwirkung entstandene Methylenazur (vgl.

weiter unten). Wegen immer weiter fortschreitender Farbstoffzersetzungen unerwünschter Art ist die Lösung nur kurze Zeit haltbar.

Färbung mit Azur II.

Lösung I: 1 g Azur II (Azur II = Mischung von gleichen Teilen Methylenazur- und Methylenblauchlorhydrat, von Grübler zu beziehen) in 100 ccm $\frac{1}{2}$ %igem Karbolwasser (jahrelang haltbar).

Lösung II: 1 g kristallisiertes Natriumkarbonat (oder Kaliumkarbonat) in 100 ccm destilliertem Wasser.

Man verdünnt kurz vor der Färbung einige Tropfen von Lösung I mit destilliertem Wasser wie bei der Manson-Färbung, gibt zu 10 ccm der Verdünnung 1—10 Tropfen von Lösung II und färbt 10—15 Sekunden oder länger. Durch dieses Verfahren läßt sich die Manson'sche Färbemethode und eine ganze Reihe anderer namentlich in der Bakteriologie gebräuchlichen Vorschriften ersetzen, bei denen alkaliversetzte Methylenblaulösungen benutzt werden (Löffler'sche Lösung, Koch'sche Lösung), die alle bezüglich Haltbarkeit und dauernd gleichmäßiger Wirkung zu wünschen übrig lassen.

Blochmannsche Färbung (medifiz. van Gieson-Färbung).

Farblösung: In 100 ccm gesättigter Pikrinsäurelösung werden 0,01 g phenylrosanilintrisulfosaures Natrium gelöst.

Färbung: Schnitte bleiben bis zu 12 Stunden in der Lösung. Wird besonders für Myxosporidiensporen empfohlen. Schale der Sporen gelb, Sporoplasma und Polkapseln grün, Kernfärbung rot.

Mallorysche Färbung.

Nötige Lösungen:

1. Säurefuchsinlösung 1‰ wässerig,
2. Phosphormolybdänsäurelösung 1% wässerig,
3. Anilinblau 0,5 % wässerig,
4. Orange G, 2 % wässerig,
5. Oxalsäure 2 % wässerig.

Fixierung: Sublimat oder Zenker'sche Flüssigkeit.

Färbung: Celloidin- oder Paraffinschnitte kommen aus Wasser 1—3 Minuten in Lösung 1, dann nach Auswaschen in Wasser 1 Minute und länger in Lösung 2, (Platin- oder Glasnadel!). Gut Auswaschen mit Wasser, schließlich 5 Minuten lang in eine Mischung aus gleichen Teilen von Lösung 3, 4, 5. Rasches Abspülen in Wasser, direkt in Alkohol 96 %, Alkohol abs., Xylol-Balsam.

Besonders für Myxosporidiensporen empfohlen.

Triacidfärbung nach Ehrlich.

Farblösung: Eine Lösung von Methylgrün, Orange G und Säurefuchsin, die fertig von Grübler zu beziehen ist.

Färbung: Präparate 30—45 Sekunden bei 120° fixieren. 5 Minuten lang Farbstoff einwirken lassen, gründliches Abspülen in Wasser bis keine Farbe mehr abgeht, Trocknen zwischen Fließpapier, Balsam. Für Bluttrockenausstriche empfohlen.

Methylgrün-Pyronin-Färbung nach Unna-Pappenheim.

Farblösung:	Methylbrün 00 krist. gelblich (Grübler)	0,15 g
	Pyronin	0,25 „
	Alkohol	2,5 „
	Glycerin	20,0 „
	0,5 % iges Karbolwasser	100,0 „

Färbung: 1. Celloidin-, Paraffin- oder Gefrierschnitte (Härtung nur in Alkohol abs.) aus Wasser 20—40 Minuten in Farblösung erwärmen, dann Lösung schnell abkühlen, 2. Abspülen in Wasser 1—3 Minuten, 3. rasch in Alkohol abs. entwässern, 4. Bergamottöl oder Xylol-Balsam.

BORREL'sches Gemisch.

Farblösung 1: Konz. wässerige Lösung von Magentarot,
„ 2: Konz. wässerige Lösung von Prikinsäure,
„ 3: Wässerige Indigokarminlösung.

Färbung: Formol- oder sublimatgehärtete Schnitte kommen erst in Nr. 1, dann in ein Gemisch von gleichen Teilen 2 + 3.

Romanowsky-Färbung. Diese Färbung, welche von ROMANOWSKY zunächst nur für die Darstellung der Malariaparasiten empfohlen war, hat in den letzten Jahren für die gesamte Mikrobiologie große Bedeutung erlangt. Den Erfolg hat sie der außerordentlich kontrastreichen Wirkung zu verdanken, welche sie auf jedes Zellmaterial, sei es tierischer oder pflanzlicher Herkunft, ausübt. Bei Trockenpräparaten erscheinen die Kerne leuchtend rotviolett, das Plasma blau, andere Elemente präsentieren sich in Mischfarben von blau und rot mit sehr distinkter, teilweise durch Metachromasie hervorgerufener Abtönung; stark acidophile Einschlüsse erscheinen eosinfarben. Auch die Färbungsintensität der Chromatin- und Chromidialsubstanzen sowie vieler Granulationen erreicht durch kein anderes substantives Tinktionsverfahren einen derartig hohen Grad wie durch die ROMANOWSKY-Färbung.

ROMANOWSKY selbst bediente sich bei der Färbung einer alten gereiften Methylenblaulösung, die er mit Eosinlösung in bestimmten Verhältnissen mischte und auf das Präparat einwirken ließ. Im Laufe der Zeit wurden dann zahlreiche Versuche gemacht, diese ursprüngliche Methode, die sich als recht unsicher herausstellte, zu verbessern, so von ZIEMANN, NOCHT, LAVERAN, RUGE, MAURER, REUTER, LEISHMAN, MICHAELIS, WRIGHT, GIEMSA u. a. Die Grundlage, auf der sich die Färbung bis zu der Höhe, auf der die heute steht, entwickelte, gab NOCHT, und zwar durch den experimentellen Nachweis, daß nicht das Methylenblau, sondern ein Zersetzungsprodukt desselben, das sog. „**Rot aus Methylenblau**" bei der Chromatinfärbung die Hauptrolle spielt. Hierdurch war der Weg zu der schließlichen Erkenntnis gegeben, daß das chromatinfärbende Prinzip, wie MICHAELIS und GIEMSA später feststellte, im „Methylenazur", einem zuerst von BERNTSEN beschriebenen Derivat des Methylenblau zu suchen sei, welches bei dieser Färbung als amphochromes Farbsalz (Azur-Eosin) seine spezifische Wirkung entfaltet. Mit der ROMANOWSKY-Färbung sind nicht jene Verfahren zu verwechseln, bei denen ein amphochromes Farbsalz zur Anwendung gelangt, welches aus frischer, unzersetzter also azurfreier Methylenblaulösung und Eosin resultiert, wie es zuerst von JENNER in die Praxis eingeführt und später von MAY-GRÜNWALD namentlich zur Granulafärbung der Leucocyten empfohlen wurde. Durch dieses Farbsalz werden die Kerne der weißen Blutkörperchen und der Protistenzelle nicht rotviolett, sondern blau gefärbt.

Mit der theoretischen Seite des eigenartigen Prozesses, der sich bei der ROMANOWSKY-Färbung abspielt und bei welchem 3 Farbstoffe von verschiedenen Elektionsvermögen (Methylenazur, Methylenblau und Eosin) und teilweise metachromatischen Eigenschaften (s. weiter unten) in Wechselwirkung treten, haben sich bislang nur wenige Autoren beschäftigt. MICHAELIS läßt es im Zweifel, ob die Rotreaktion der Kerne auf einer bloßen Metachromasie des Methylenazurs beruht, zu deren Entstehung die Gegenwart des Eosin nur Anlaß gibt, oder ob beide Farbstoffe, das Eosin und das Azur, bei der Färbung aktiv beteiligt sind. Nach eigener Erfahrung ist letzteres, wie durch Successivfärbung festgestellt wurde,

sicher der Fall, und zwar müssen wir die Färbung zum Teil als Beizenfärbung (siehe auch Michaelis) betrachten, denn es läßt sich experimentell leicht nachweisen, daß sowohl die Chromatinsubstanz wie die anderen Zellelemente aus wässerigen Lösungen des — in Dissoziation befindlichen — Azureosin zuerst immer nur diejenigen Farbkomponente aufnehmen, zu der sie ursprüngliche natürliche Affinität besitzen. Erst im Laufe längerer Färbedauer addieren die azurgefärbten Elemente zum Teil noch Eosin und die eosinroten Azur, wobei aber — vorausgesetzt, daß man mit völlig neutraler Farbflotte operiert — die Präoccupationsfarbe chromatisch fast immer überwiegt. Das Azur scheint somit eine Beize für das Eosin zum bilden und umgekehrt. Völlig unhaltbar sind die Ansichten, die Pelet kürzlich über die Theorie der Romanowsky-Färbung entwickelte. Genannter Autor hat die Vorstellung, daß die Rosafärbung (?) des Kernes lediglich durch das Eosin bewirkt wird und hat gänzlich übersehen, daß bei der Methode außer Methylenblau das gerade für die typische Kerntinktion gänzlich unentbehrliche Methylenazur die Hauptrolle spielt.

Nochtsches Verfahren. Nocht bediente sich bei seiner Methode folgender zwei Lösungen:

Lösung I: 1 % ige wässerige Methylenblaulösung, die er nach Zusatz von 0,5 % Soda mehrere Tage bei 50—60° reifen ließ und dann bei Zimmertemperatur aufbewahrte.

Lösung II: 1 % ige wässerige Eosinlösung.

Von Lösung II verdünnt man 2—3 Tropfen mit 1—2 ccm Wasser und setzt dann tropfenweise von Lösung I so lange zu, bis nichts mehr von dem Eosin zu sehen ist, das Gemisch also blau geworden ist. Auf dieser Lösung läßt man die Präparate mit nach unten gekehrter Schichtseite 5—10 Minuten lang schwimmen. Abspülen, Trocknen, Cedernöl.

Ähnlich sind die Methoden von Ruge, Ziemann, Laveran.

Reuter löst den beim Vermischen von Eosin und gereifter Methylenblaulösung entstehenden Niederschlag, nachdem dieser gewaschen und eingetrocknet worden ist, in Methylalkohol und benutzt die mit Wasser verdünnte Lösung zur Färbung.

Leishman operiert mit einer ganz ähnlich hergestellten methylalkoholischen Farblösung (0,15 g : 100 cc), gießt diese — um damit gleichzeitig zu härten — unverdünnt auf das lufttrockene Objekt und setzt erst nach Ausübung dieser Wirkung (nach 1 Minute) direkt dem Präparate Wasser hinzu. Mit diesem Verfahren erzielt man bisweilen recht gute Bilder, oft werden jedoch infolge der schnellen Verdunstung des äußerst flüchtigen Methylalkohols auf dem Objekt Farbniederschläge hervorgerufen, die außerordentlich schwer zu entfernen sind und sehr störend wirken.

Mit Hilfe des reinen Methylenazurs konnte Giemsa später die bestehenden Vorschriften für die die Romanowsky-Färbung wesentlich verbessern.

Giemsa-Färbung.

Nötige Farb-Stammlösung: Giemsa's Lösung für die Romanowsky-Färbung[1]) (am besten fertig von Dr. Grübler, Leipzig, zu beziehen).

Zusammensetzung: Azur II-Eosin 3,0 g
Azur II 0,8 g
Glycerin (Merck, chem. rein) 125,0 g
Methylalkohol (Kahlb. I) 375,0 g.

[1]) Eine ältere, hin und wieder noch gebrauchte Vorschrift, bei welcher 2 Farblösungen benötigt werden, lautet wie folgt:

Lösung I: 0,8 promill. wässerige Lösung von Azur II,
Lösung II: 0,05 „ „ „ „ Eosin (extrawasserlöslich).

Man läßt zu 10 ccm von Lösung I im Mischzylinder 1 ccm Lösung II unter Umschütteln hinzufließen und färbt mit dem frisch bereiteten Gemisch.

Allgemeine Regeln, die bei der GIEMSA-Färbung zu beobachten sind:

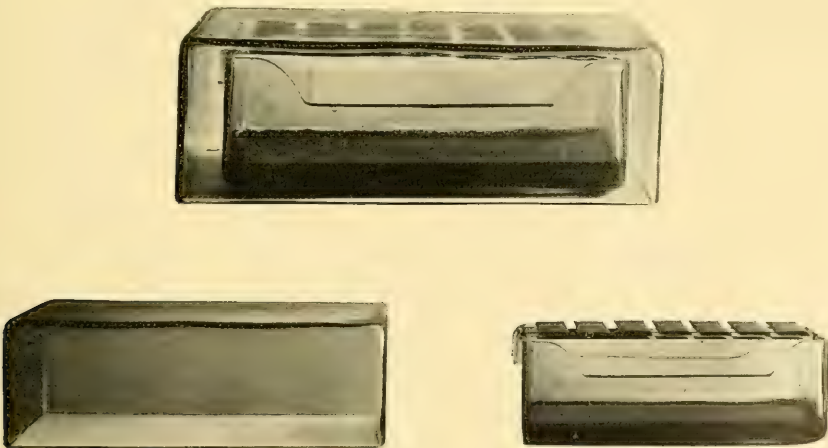
1. Das zu benutzende destillierte Wasser muß absolut sauber und säurefrei sein, ein s e h r g e r i n g e r Alkaleszenzgrad ist dagegen meist von Vorteil.[1]) Man prüft das Wasser mit Hilfe einer f r i s c h bereiteten Lösung von einigen Körnchen Hämatoxylin in etwas abs. Alkohol. 10 ccm des zu prüfenden Wassers mit einigen Tropfen dieser Lösung vermischt, sollen sich innerhalb 5 Minuten, nicht aber vor Ablauf einer Minute s c h w a c h aber d e u t l i c h violett färben. Bleibt das Wasser farblos, so ist zum Vorratsgefäß so lange tropfenweise 1 % ige Natriumkarbonatlösung zuzusetzen, bis in einer neuen Probe die erwähnte Reaktion innerhalb der angegebenen Zeit erfolgt. Sauber aufgefangenes Regen- und Schneeschmelzwasser eignet sich, wenn es filtriert und abgekocht worden ist, gleichfalls zur Färbung; Leitungswasser dagegen nur selten; ein gewisser Gehalt desselben an anorganischen Salzen, namentlich an denen des Magnesium kann die Färbung völlig vereiteln.

2. Die Farblösung muß nach dem Verdünnen mit Wasser (10 Tropfen — aber n i c h t m e h r, auf 10 ccm dest. Wasser) „u n v e r z ü g l i c h“ auf das vorher bereitgelegte Präparat gegossen werden.

3. Zum Verdünnen der Farblösung benutze man nur w e i t e g r a d u i e r t e G l a s z y l i n d e r (ca 2½ cm Durchmesser), dagegen keine engen Reagenzgläser. Man träufle die Lösung schnell in das Wasser, schwenke hierbei den Zylinder um, aber nur so lange, bis eine homogene Durchmischung beider Flüssigkeiten erfolgt ist. Schüttelt man zu lange, so läuft man Gefahr, daß sich das Farbsalz, welches aus der stark übersättigten wässerigen Lösung in normaler Weise erst nach Ausübung der Wirkung ausfallen soll, zum Nachteil der Färbung zu früh ausscheidet.

4. Man färbt am besten im Färbetrog nach M. MAYER (s. Figur) mit Überstülpdeckel (bei LAUTENSCHLÄGER zu haben) bei horizontaler Lage der Objektträger.

5. Bei der Herstellung von Feuchtpräparaten und Schnitten (Sublimatfixierung) dürfen k e i n e P i n z e t t e n a u s M e t a l l, sondern nur solche aus Horn usw. benutzt werden.



[1]) Für die Darstellung mancher Gebilde, z. B. der Granula in den Eulenhalteridien (MAYER), der Perniciosaflecken und Halbmondkapseln (MAURER) bei der *Malaria tropica* ist sogar ein etwas stärkeres Alkalisieren nötig. In solchen Spezialfällen setzt man zu 10 ccm des für allgemeine Zwecke brauchbar befundenen Wassers noch einen Tropfen einer 1 %igen Natriumkarbonatlösung, bevor man den Farbstoff hinzufügt.

a) Trockenausstriche.

Gewöhnliche Methode:

Härtung der lufttrockenen Ausstriche in Alkohol abs. 30 Minuten und länger, oder schneller (2—3 Minuten) in Methylalkohol oder Alkohol abs. + Äther āā. Abtupfen mit Fließpapier. Übergießen der Präparate mit frisch verdünnter Giemsa-Lösung (10 Tropfen auf 10 ccm Wasser). Mindestens 15 Minuten oder beliebig länger färben. Abwaschen im Wasserstrahl (Differenzieren in reinem Aceton, destilliertem oder ganz schwach mit Essigsäure versetztem Wasser meist nur nach sehr langer Färbung nötig), abtupfen, trocknen, Cedernöl.

Schnellfärbemethoden. (Besonders zur Darstellung der Spirochaete pallida):

1. Vorsichtiges Fixieren des frischen, lufttrocknen Ausstrichs vorsichtig über Spiritusflamme oder besser (2 Minuten) in Methylalkohol oder Alkoholäther āā. Bei älteren Präparaten ist Fixierung entbehrlich.

Herstellen verdünnter Farblösung (10 Tropfen Giemsa-Lösung auf 10 ccm destilliertes Wasser).

Übergießen des Ausstrichs mit einem Teil der frisch verdünnten Lösung. Über der Flamme vorsichtig bis zur Dampfbildung erwärmen. Nach ¼ Minute Farblösung vom Präparat abgießen, einen weiteren, noch unbenutzten Teil der Lösung darauf gießen, wiederum erwärmen, fortgießen und Prozedur ca. 4 mal wiederholen, Abtrocknen, Cedernöl.

2. Weit bequemer ist eine neuere von Giemsa angegebene Methode.

Farbmischung: Man verdünnt die käufliche Giemsalösung im Tropffläschchen mit dem gleichen Volumen Aceton oder Methylalkohol reinster Qualität. (Für die Tropen ist Aceton weniger zu empfehlen. — Mischung behält nur einige Tage volle Farbkraft, daher nicht viel vorrätig halten).

Färbung: Einlegen des lufttrocknen, sehr dünnen Objektträgerausstriches (Schichtseite nach oben) in eine trockne Petrischale oder noch besser, in die eigens für diese Färbung hergestellten Färbewännchen (bei Carl Zeiß, Jena und F. & M. Lautenschläger, Berlin, zu haben). Aus dem Tropffläschchen soviel Farbmischung auf das Präparat tropfen, bis dieses hiermit völlig benetzt ist (10—15 Tropfen). Eine halbe bis höchstens 1 Minute bei bedeckter Schale einwirken lassen. Darauf soviel destilliertes, nötigenfalls vorher schwach alkalisiertes Wasser in die Schale gießen, bis Objektträger ganz von Flüssigkeit bedeckt ist (10—12 ccm). Hin- und Herschwenken bis Farblösung und Wasser homogen durchmischt sind. 3, bei Trypanosomen oder Spirochäten (besonders pallida) 5 Minuten oder länger in dem Gemisch belassen, Farblösung abgießen, Objekt mit Wasser abspülen, trocknen.

b) Feuchtpräparate.

Fixieren der sehr dünnen, noch feuchten Ausstriche in auf 60—70° erwärmtem Sublimatalkohol nach Schaudinn (s. S. 11) 1—24 Stunden und beliebig länger, hierbei Objektträger (Deckgläschen) mit nach unten gekehrter Schichtseite auf Lösung werfen, nachher umdrehen. Die Lösung braucht nur beim Einlegen der Objekte warm zu sein.

Abwaschen in Wasser oder 70 % igem Alkohol.

10 Minuten lang in eine Lösung von Jodkali 2 g in dest. Wasser 100 g, welcher 3 ccm Lugol'scher Lösung zugefügt wurden, oder — für die Erhaltung des Plasmas (Granulationen) vorteilhafter — in sehr verdünnte Jodtinktur (1 ccm Tinktur auf 100 ccm Alkohol 70 % ig). Abwaschen in Wasser.

10 Minuten lang in eine 0,2—0,5 % ige wässerige Lösung von Natriumthiosulfat. Gut abwaschen in Wasser.

Färben mit frisch verdünnter Giemsa-Lösung (nach der ersten halben Stunde alte

Lösung ab- und frische darauf gießen). Abspülen in Wasser und Hindurchführen durch folgende Reihe:

1. Aceton 95 ccm, Xylol 5 ccm,
2. Aceton 70 ccm, Xylol 30 ccm,
3. Aceton 70 ccm, Xylol 30 ccm,
4. Xylol pur.

Anstatt 1. kann auch reines Aceton benutzt werden. Die Präparate dürfen, nachdem sie einmal jodiert bzw. dejodiert worden sind, nicht noch längere Zeit in irgendwelchen Medien aufbewahrt werden, sondern müssen bald gefärbt werden, weil sie sonst sehr bald ihre spezifische Färbbarkeit einbüßen. Dies bezieht sich ebenso auf Schnitte.

c) Schnitte.

Organstücke, nicht über 5 mm dick, werden in Sublimatalkohol 48 Stunden oder beliebig länger fixiert. Die sehr dünnen Paraffinschnitte kommen aus Wasser (oder 70 % igem Alkohol) 10 Minuten lang in eine der unter b angegebenen Jodlösungen und werden auch weiterhin genau wie die Feuchtpräparate behandelt.

Löfflersche Geifselfärbung.

Beize:	20 % ige, heiß bereitete Lösung von Tannin	100 ccm
	kalt gesättigte Lösung von Ferrosulfat (oder Eisenammoniumoxydulsulfat)	50 ccm
	alkoholische (oder wässerige) Fuchsinlösung (auch solche von Methylviolett oder Wollschwarz)	10 ccm

werden miteinander gemischt.

Farblösung: Anilinwasserfuchsinlösung (jedesmal frisch zu bereiten).

Beizung und Färbung: Man behandelt den Ausstrich ½—1 Minute lang mit der Beize (die am besten fertig von Grübler bezogen wird) unter leichtem Erwärmen über der Spiritusflamme, spült gründlich mit Wasser ab und färbt 1—2 Minuten, wiederum unter leichtem Erwärmen in der Farblösung, der man vorher soviel einer $^1/_{10}$ % igen Natronlauge hinzugesetzt hat bis eine schwache (beim Erwärmen verschwindende!) Schwebefällung entstanden ist. Abspülen in Wasser, Trocknen, Balsam.

Hämatoxylinfärbungen.

Hämatoxylin färbt selbst nicht, sondern nur einige seiner niederen Oxydationsprodukte, insbesondere das Hämatein. Frisch bereitete Hämatoxylinlösungen müssen daher, gleichviel ob sie wässerig oder alkoholisch sind, vor dem Gebrauch erst einige Tage, am besten im offenen Gefäß beiseite gestellt werden, damit sich durch Einwirkung des Luftsauerstoffs diese Oxydationsprodukte in genügender Menge bilden können.

Die Färbung mit derartig vorbereiteten Hämatoxylinlösungen gelingt nach fast allen Fixierungsmethoden. Nur nach der Behandlung mit Chromosmiumgemischen geht sie etwas langsam vonstatten und muß daher auf längere Zeit ausgedehnt werden. Jedesmalige Filtration der Lösung vor der Färbung ist angezeigt. Nach der Färbung wird eine halbe bis mehrere Stunden in Leitungswasser gewaschen. Die Färbung ist monochromatisch: Kerne tiefblau, Protoplasma, Schleim usw. blaßblau.

Differenzierung-(Entfärbungs-)mittel: Salzsäurealkohol (ein Teil konzentrierte Salzsäure auf 100 Teile 70 % igen Alkohol) eine Minute oder

Alaunlösung (0,5 % ig). Dieselbe wirkt langsamer und gestattet daher eine bessere Verfolgung des Differenzierungsgrades. Nach beiden Mitteln eine halbe Stunde in öfter

zu wechselndes oder am besten fließendes Leitungswasser. Folgende Hämatoxylin lösungen werden bei der Protozoenforschung bevorzugt:

Hämatoxylin nach Böhmer.

Lösung I: 1 g kristallisiertes Hämatoxylin in 10 ccm Alkohol abs.

Lösung II: 20 g Alaun in 200 ccm warmem dest. Wasser. Man läßt erkalten und filtriert.

Nach 24 stündigem Stehen werden beide Lösungen gemischt. Das Gemisch bleibt 8 Tage in weithalsigem Gefäß offen stehen und wird darauf filtriert.

Hämatoxylin nach Delafield (Grenacher).

400 ccm Ammonialkalaunlösung (wässerig konzentriert) werden mit 4,0 g kristallisiertem Hämatoxylin, das in 25 ccm Alkohol abs. gelöst ist, gut gemischt. Das Gemisch bleibt 3—4 Tage in offenem Gefäß stehen, wird dann filtriert und nach Zusatz von je 100 ccm Methylalkohol und Glycerin in geschlossener Flasche aufbewahrt. Ältere Lösungen, die sehr leicht überfärben, verdünnt man vor dem Gebrauch mit 2 %iger Alaunlösung.

Hämalaun nach P. Mayer.

Lösung I: Hämatein 1,0 g in Alkohol (90 %ig) 50 ccm.

Lösung II: Kalialaun 50,0 g in dest. Wasser 1000 ccm.

Man gießt I und II zusammen, läßt erkalten, absetzen und filtriert. Die Lösung ist sofort gebrauchsfähig, da sie das für die Färbung nötige Oxydationsprodukt des Hämotoxylins, das Hämatein, bereits von vornherein enthält.

Saures Hämalaun

erhält man, indem man zum Hämalaun nach Mayer 2 % Eisessig hinzufügt.

Saures Hämatoxylin nach Ehrlich besteht aus:

Wasser 100 ccm
Alkohol 100 ccm
Glycerin 100 ccm
Eisessig 10 ccm
Hämatoxylin 2,0 g
Alaun im Überschuß.

Lösung, die sehr haltbar ist, muß reifen bis sie gesättigt rot erscheint.

Eisenhämatoxylinfärbung nach Heidenhain.

Lösung I: 2½ %ige wässerige Lösung von violettem Eisenammoniumoxydsulfat.

Lösung II: Hämatoxylin 1,0 g, Alkohol abs. 10 ccm, dest. Wasser 90 ccm.

Lösung II, die mindestens vier Wochen reifen muß, wird am besten direkt von Dr. Grübler, Leipzig, bezogen.

Man fixiert vorteilhaft in Sublimatgemischen oder im Flemming'schen Gemisch (s. S. 12), beizt die sehr dünnen, von Paraffin befreiten Schnitte ½—3 Stunden und wäscht in destillierten Wasser gut aus, hierauf färbt man 24—36 Stunden in Lösung II, wäscht in reichlichem Leitungswasser aus und differenziert in Lösung I unter steter Kontrolle durch das Mikroskop, bis das Plasma ganz hell ist und die Kerne ein schwarzes Chromatingerüst zur Schau tragen, spült gründlich in Leitungswasser ab und bringt das Präparat durch Alkoholreihe, Xylol, in Kanadabalsam.

Das Heidenhain'sche Verfahren, welches sich insbesondere zur Darstellung der Centrosomen vorzüglich eignet, aber sehr lange Zeit erfordert, ist neuerdings von Breinl und Rosenbusch modifiziert und sehr abgekürzt worden. Auch bei diesen

Methoden, die hauptsächlich der Herstellung von Feuchtausstrichen dienen, werden ausgezeichnete Bilder erhalten. Am schnellsten führt das Verfahren von ROSENBUSCH zum Ziel.

Eisenhämatoxylinfärbung nach Rosenbusch.

Lösung I: Eisenammoniumoxydsulfat $3\frac{1}{2}$—5 % ig, wässerig.
Stammlösung II: Hämatoxylin 1,0 g, Alkohol (96 %) 100 ccm (reifen lassen!).
Stammlösung III: Gesättigte wässerige Lösung von Lithiumkarbonat.

Man fixiert in Sublimatalkohol nach SCHAUDINN (S. 11), spült in 50 % igem Alkohol ab und führt in Wasser über. (Jodalkohol kann nach ROSENBUSCH ausgeschlossen werden, wenn die Fixierungsflüssigkeit keine Sublimatkristalle zeigt. Ist er benutzt worden, so muß nochmals mit Wasser gewaschen werden.) Hierauf beizt man $1\frac{1}{2}$ Stunden in Lösung I, spült gut mit Wasser ab und färbt 5 Minuten oder weniger in einer frisch hergestellten Mischung von 10 ccm der Lösung II + soviel (5—6) Tropfen der Lösung III bis die Hämatoxylinlösung weinrot aussieht. Bei Bedarf differenzieren in vorher noch stark zu verdünnender Lösung I (empfehlenswerter kürzeres Färben ohne zu differenzieren). Wasser, Alkoholreihe, Xylol, Kanadabalsam.

Das BREINL'sche Verfahren ist dem von ROSENBUSCH angegebenen sehr ähnlich, nur wird anstatt der alkoholischen Hämatoxylinlösungen eine 0,5 % ige wässerige benutzt und eine halbe Stunde lang gefärbt.

Karminfärbungen.

Alaunkarmin (Grenacher).

Farblösung: 1,0 g Karmin wird mit 100 ccm eines 5 % igen Kali- oder Ammoniakalaun 20 Minuten gekocht und nach dem Erkalten filtriert.

Färbung: gelingt am besten nach Fixierung in Alkohol, Sublimat, Formalin, MÜLLER'scher Flüssigkeit. Schnitte aus destilliertem Wasser 10 Minuten bis mehrere Stunden in Farblösung legen, sehr gut in Wasser auswaschen, Einlegen in Glycerin oder nach Alkoholreihe in Öl oder Balsam. Kerne violett, Protoplasma farblos. Überfärbung tritt auch bei tagelangem Belassen in der Farblösung nicht ein.

Karmalaun (Mayer).

Man löst 1,0 g Karminsäure und 10,0 g Alaun in 200 ccm Aq. dest., läßt absetzen, filtriert ab und setzt 1 ccm Formol oder 0,2 g Salicylsäure zu. Die hiermit gefärbten Objekte werden mit Wasser, oder falls reine Kernfärbung gewünscht wird, vorher noch mit Alaunlösung behandelt. Im allgemeinen färbt Karmalaun wie Alaunkarmin, hat aber größere Tiefenwirkung als dieses.

Boraxkarmin (Grenacher).

Farblösung: Karmin 0,5 g, Borax 2,0 g, Aq. dest. 100 ccm, werden miteinander gemischt, Mischung gekocht und ihr unter fortwährendem Umrühren tropfenweise 0,5 % ige Eisessigsäure zugesetzt, bis die Lösung tiefrot gefärbt ist (etwa 4,5 ccm). Nach 24 Stunden wird filtriert.

Färbung: (Fixierung wie bei Alaunkarmin). Schnitte mit dest. Wasser 3—20 Minuten in Farblösung, Abspülen in Wasser, Differenzierung in Salzsäurealkohol (1 Teil Salzsäure auf 100 ccm Alk. 70 %). Gründlich Auswaschen in Wasser, dann Alkoholreihe, Öl, Balsam.

Kerne rot mit meist sehr guter Struktur.

Pikrokarmin (nach Neumann).

Farblösung: Man löst 0,5 Pikrinsäure in 40 ccm des GRENACHER'schen Boraxkarmin.



Färbung: Alkoholgehärtete Schnitte in der Farblösung 5—10 Minuten färben, darauf 10 Minuten lang in Salzsäure-Glycerin (4 Tropfen Salzsäure auf 10 ccm Glycerin). Hierauf entweder in reinem Glycerin untersuchen oder in pikrinsäurehaltigem Alkohol entwässern, in Öl aufhellen und in Balsam. Kerne rot, Protoplasma gelb.

Indigkarmin (nach Mayer).

Lösung I: (Nur wenige Monate haltbar) 1,0 g Indigkarmin wird in 500 g dest. Wasser oder 5 % iger Alaunlösung gelöst.

Lösung II: Karmalaun oder Hämalaun (s. dieses).

Ein Teil von Lösung I wird mit 4—20 Teilen von Lösung II vermischt und mit dieser Mischung gefärbt. Indigkarmin in einfacher wässeriger Lösung färbt nur diffus (Mayer).

F. Versilberung

(in der Protozoologie hauptsächlich zur Darstellung der Spirochäten in Schnitten. besonders der *Spirochaete pallida* gebraucht).

Levaditi-Methode.

Alte Vorschrift:

1. Fixieren dünner Gewebsscheiben in 10 % igem Formalin 24 Stunden und länger,
2. Übertragen in 90 % igem Alkohol auf 24 Stunden,
3. Einlegen in destilliertes Wasser bis Stücke untersinken,
4. Einlegen auf 3—6 Tage in eine 1,5—3 % ige wässerige Lösung von Silbernitrat bei 37°,
5. Kurz abwaschen in destilliertem Wasser,
6. Reduzieren 24—48 Stunden bei Zimmertemperatur in einer Mischung von 5 ccm (40 % iges) Formalin + 100 ccm destilliertes Wasser, in der 2—4 g Pyrogallussäure gelöst ist,
7. Auswaschen in Wasser, Einbetten in Paraffin, Schneiden (nur mittlere Schnitte brauchbar).

4—5 unter Lichtabschluß (dunkle Flasche) ausführen!

Neue Vorschrift:

1. Fixieren in 10 % Formalin 24 Stunden,
2. Nachhärten in 90 % Alkohol 12—16 Stunden,
3. Übertragen in destilliertes Wasser bis Stücke untersinken,
4. Einlegen (Einhängen) in 90 ccm einer 1,5 % igen Silbernitratlösung, der unmittelbar vor dem Gebrauch 10 ccm reinstes Pyridin zugesetzt werden (dunkle Flasche!) zuerst 2—3 Stunden bei Zimmertemperatur, nachher 4—6 bei 50°.
5. Rasch Abwaschen in reinem Pyridin,
6. Reduzieren 12 Stunden in folgender Lösung: Man mischt unmittelbar vor dem Gebrauch 90 ccm (4 % ige) Pyrogallussäurelösung mit 10 ccm reinstem Aceton und setzt zu 85 ccm dieses Gemisches 15 ccm Pyridin (dunkle Flasche),
7. Übertragen in Alkohol und rasch Einbetten in Paraffin. Schneiden.

Von vielen Autoren wird die ältere Methode als die sicherere vorgezogen.

Methode nach Bertarelli und Volpino:

1. Sehr dünne Schnitte aus Wasser auf 24—48 Stunden in 0,2—0,5 % ige Silbernitratlösung bringen,

2. Auswaschen in destilliertem Wasser,
3. ¼ Stunde lang in van Ermengen's Geißelbeize, bestehend aus einer Lösung von Acid. pyrogall. 5,0 g, Tannin 3,0 g, Natrium acet. fus. 10,0 g in Aq. dest. 350,0 g.
4. Zurückbringen in Lösung 1, bis die Schnitte bräunlichgelb geworden sind.

G. Das Tuscheverfahren.

Das Tuscheverfahren gehört eigentlich nicht zum Kapitel der Färbung, sei aber hier gleichfalls erwähnt. Es wurde von Burri für eine bessere Sichtbarmachung der Mikroorganismen im allgemeinen, für Schnelldiagnose der Spirochäte pallida insbesondere empfohlen.

Burri-Methode.

Eine kleine Öse Sekret wird mit etwas Wasser verdünnt, hiervon eine Öse mit einem kleinen Tropfen chinesischer Tusche (Fabrikat von Günther Wagner, Hannover, auch bei Grübler erhältlich) verrührt, das Ganze zu einem bräunlichen Fleck verstrichen, getrocknet, und mit Immersion untersucht. Bei gelungenem, genügend dünnem Ausstrich heben sich die hell erscheinenden Spirochäten und andere Mikroorganismen von dem durch die eingetrocknete Tusche bräunlich erscheinenden Grunde vorteilhaft ab.

Die Methode ist später von einigen anderen Autoren verschiedentlich, aber unwesentlich abgeändert worden, so von Hecht und Wilenko, Hoffmann, Frühwald, Hins.

Rosenhauer hat das Tuscheverfahren mit Vorteil auch zur Beobachtung lebender Mikroorganismen auf festen Nährböden benutzt.

H. Die Vitalfärbung.

Unter der Vitalfärbung, die wir den genialen Forschungen P. Ehrlichs zu verdanken haben, versteht man die künstliche Färbung irgendwelcher Bestandteile der „lebenden" Zelle, unter Vitalfarbstoffen solche Farbkörper, welche sich zu derartigen Tinktionen eignen.

Durch das Auffinden einiger für die Vitalfärbung besonders geeigneter Farbstoffe ist diese in jüngster Zeit zu einem außerordentlich wertvollen Hilfsmittel bei der Protozoenforschung geworden und zwar sowohl in histologischer wie in physiologischer Hinsicht.

Der histologische Wert liegt in erster Linie darin, daß manche Zelleinschlüsse, die bislang nur in fixiertem Material färberisch dargestellt werden konnten und die einige Forscher als chromophile, durch Fixiermittel hervorgerufene Artefacte anzusprechen geneigt waren, auch der Vitalfärbung zugängig sind. Auf diese Weise konnte für eine Reihe derartiger Elemente der endgültige Nachweis erbracht werden, daß sie als präformierte Gebilde anzusehen sind, die mit Kunstprodukten nichts gemein haben. Von mancher Seite wurde allerdings die Bedeutung dieser Forschungsergebnisse stark in Zweifel gezogen, indem man die Färbbarkeit lebender Substanz negierte und in den tingierten Einschlüssen nur tote apoplasmatische Stoffe erblickte, zum Teil auch Niederschläge, welche durch eine Verbindung des Farbstoffes mit den Zellproteinen und -lipoiden entstanden sein sollten. Die Widerlegung dieser sich allmählich bis zum Dogma herausbildenden Ansichten war erst dadurch möglich geworden, daß die Histo-

logie im Laufe der letzten Jahre um solche vitale Farbstoffe bereichert wurde, welche sich bei einer sehr lebhaften Affinität zu verschiedenen Zellelementen durch sehr geringe Giftwirkung auszeichneten.

Unter ihnen nimmt das von Witt entdeckte und von P. Ehrlich zuerst in der Histologie eingeführte Neutralrot den ersten Platz ein. Hiermit gelang es z. B. Prowazek und Nirenstein die verschiedenen Vakuolen und Granulationen der Protistenzelle in sehr distinkter Weise darzustellen und im gefärbten Zustand lange Zeit hindurch bei voller Lebenstätigkeit der Zelle zu beobachten. Auf Grund vieler, hierbei gemachten Wahrnehmungen, insbesondere der Erkenntnis, daß die Entoplasma-Granulationen in innigstem Zusammenhange mit den verschiedenen Stufen der Verdauung und Assimilation stehen, zogen beide Autoren den Schluß, diese Einschlüsse als mit Lebensfunktionen behaftete Materie ansehen zu müssen. In gleichem Sinne äußert sich Fischel bezüglich der chromophilen Granula, die er in der lebenden Metazoenzelle beobachtete.

Aber auch der lebende Kern ist der Färbung mit Neutralrot zugängig und kann in gefärbtem Zustande sogar den ganzen Teilungsprozeß durchmachen, wie dies für Metazoen (Amphibienlarven von Prowazek, für Opalina ranarum und Nyctotherus cordiformis von Przemycki nachgewiesen wurde. Nach Prowazek läßt sich mit dem Farbstoff ebenso die Niederschlagsmembran gewisser Erdamöben und bei manchen Infusorien regionär das zuweilen lokomotorisch stark beanspruchte Protoplasma färben.

Durch diese wichtigen Untersuchungen, insbesondere durch die am Kern, darf somit die Färbbarkeit lebender Substanz als sichergestellt gelten. Damit soll aber durchaus nicht gesagt sein, daß alles, was im Bereich der lebenden Zellen tingierbar ist, lebendige Substanz sein muß; im Gegenteil, es steht unzweifelhaft fest, daß in der Protistenzelle auch solche Einschlüsse auf Farbstoffe reagieren, welche zweifellos als tote Materie anzusehen sind. Hierzu gehören vor allem die von der lebenden Zelle aufgenommene, im Abbau begriffenen geformten Nährstoffe (Bakterien usw.) und die im Organismus aufgespeicherten Stoffwechselprodukte, z. B. Pigmente. Derartige Zellbestandteile zeichnen sich in der Regel sogar durch eine maximale Affinität zu den Farbstoffen aus und nehmen diese von allen anderen Elementen gewöhnlich zuerst auf.

Der Vitalfärbung verdanken wir aber noch manch andere namentlich biologisch wichtige Aufschlüsse über die Zelle, so die Erkenntnis, daß den verschiedenen Zellorganellen auch differente chemische Funktionen zufallen, welche teils reduktiver, teils oxydativer Natur sind. Sie finden ihren Ausdruck in der Entfärbung aufgenommener Farbstoffe bzw. in der Verküpung der entstandenen Leucoverbindungen Diese funktionelle Heterogenität dokumentiert sich auch darin, daß manche protoplasmatischen Gebilde innerhalb derselben Protistenzelle, z. B. die Nahrungsvakuolen der Ciliaten bezüglich ihrer Acid:tät bzw. Alkalinität außerordentlich untereinander differieren.

Für die Feststellung dieser Oxydations- und Reduktionsenergie kamen bisher hauptsächlich solche Farbstoffe in Betracht, welche eine leichte Verküpbarkeit (Reoxydierbarkeit der entsprechenden Leucoverbindung zu dem ursprünglichen Farbstoff) besitzen, aussichtsvoller sind aber solche unverküpbare, deren Leucoprodukte bei einer nachträglichen Oxydation einen neuen Farbstoff bilden, welcher von dem ursprünglichen in der Nuance erheblich abweicht, z. B. das von L. Michaelis hierfür angegebene Diazingrün. Bei der Prüfung der Aciditäts- und Alkaleszensverhältnisse werden solche zu bevorzugen sein, die — ihre allgemeine Brauchbarkeit für die Vitalfärbung vorausgesetzt — nach Art der in der Chemie gebrauchten Indikatoren jeden Reaktionsunterschied durch einen möglichst deutlichen Farbenumschlag beantworten.

Obgleich wir in der Vitalfärbung fast das einzige Mittel besitzen, welches uns einigen

Einblick in den Chemismus der einzelnen Zelleinschlüsse gestattet, haben sich, wenigstens soweit Protozoen in Frage kommen, bislang nur wenige Forscher in dieses äußerst interessante Gebiet zu vertiefen versucht. Die weitaus meiste einschlägige Literatur bezieht sich auf Versuche, die an Metazoen gemacht wurden. Dies ist um so auffallender, weil die Zelle der Protisten aus mannigfachen Gründen viel geeigneter für derartige Untersuchungen erscheint wie die der Metazoen. Allein schon die leichte Isolierbarkeit der Einzelligen, die Möglichkeit einer Beobachtung über eine längere Zeit hinaus, innerhalb welcher sich Umwandlungen morphologischer und physiologischer Art abspielen — läßt uns von der Vitalfärbung der Protisten a priori mehr zu erwarten als von der der Metazoen. Daß wir uns von der Vitalfärbung im allgemeinen noch weitere Erfolge, namentlich auf biologischem Gebiete versprechen dürfen, läßt allein schon der Umstand erhoffen, daß von dem unübersehbaren Heer der Teerfarbstoffe bislang nur ein verschwindender Teil auf seine Brauchbarkeit für diese Art der Färbung geprüft wurde.

Nach den bisherigen Erfahrungen eignen sich im allgemeinen nur die basischen (basochromen) Farbstoffe für die Vitalfärbung. Von den saueren (acidochromen) Salzen ist nur das Indigosulfosaure Natron bekannt, durch welches nach Heidenhain und Chroncewski) die Kerne in den gewundenen Harnkanälchen der Niere tingierbar sind. Von Michaelis wird allerdings stark angezweifelt, daß es sich hierbei um eine wirkliche vitale Färbung handelt. Ferner konnte Loisel feststellen, daß bei der Färbung lebender Schwämme auch Kongo, Tropäolin III und Orange 00 wirksam waren. Eine größere Anzahl (etwa 100) verschiedenster Farbsalze, sowohl acido- wie basochromer ist von Fischel auf ihre Brauchbarkeit zur Vitalfärbung bei Larven von Salamandra maculosa geprüft worden. Seine Untersuchungen sind sehr ergebnisreich und besonders auch deshalb wichtig, weil hierzu Vertreter verschiedener chemischer Farbstoffklassen herangezogen wurden und unter der wertvollen Beihilfe von Huppert ermittelt worden ist, ob bestimmte Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution der betreffenden Farbkörper und ihrer Wirksamkeit bestehen. Von einer Aufführung der umfangreichen Einzelheiten muß hier aus Raummangel Abstand genommen werden, doch sei wörtlich wiedergegeben, was Fischel und Huppert am Schlusse des betreffenden Kapitels hierüber sagen.

„So viele Beziehungen sich auch aus den voranstehenden Ermittlungen zwischen der chemischen Konstitution und dem Färbungsvermögen ergeben haben, so tritt doch eine unverkennbare Elektivität des lebenden Gewebes den Farbstoffen gegenüber hervor. Zwar läßt sich aus den gewonnenen Resultaten mit großer Sicherheit schon im voraus angeben, daß gewisse Substanzen infolge ihrer chemischen Konstitution nicht färben werden; wenn wir aber auch wissen, daß ein Farbstoff, um vieles färben zu können, basisch, und das zwar in einer ganz bestimmten Form, sein muß, so läßt sich doch nicht a priori behaupten, daß alle in dieser Art zusammengesetzten Stoffe das lebende Gewebe unbedingt färben müssen. Das lebende Gewebe wahrt vielmehr seine Elektivität unter allen Umständen, es weist zwar Farbstoffe einer gewissen Zusammensetzung stets zurück, nimmt aber andererseits nicht alle diejenigen an, welche einander ihrer chemischen Konstitution nach sehr nahe stehen."

Eine besondere Charakterisierung der Vitalfarbstoffe erfolgte durch Overton, der die Ansicht vertrat, daß bestimmte Beziehungen zwischen der Lipoidlöslichkeit der Farbstoffe und der Vitalfärbung beständen und sich auf Grund seiner nach dieser Richtung hin angestellten Versuche zur Aufstellung des allgemeinen Satzes berechtigt glaubte, daß die Vitalfarben lipoidlöslich, Nichtvitalfarben lipoidunlöslich seien. Andere Forscher, wie Jost, Pfeffer und insbesondere Ruhland haben jedoch bewiesen, daß diese Theorie unhaltbar ist. Auch Höber,

der früher zu den eifrigsten Verfechtern der Overton'schen Anschauungen gehörte. wendet sich neuerdings immer mehr von ihnen ab.

Die Verwendungsweise der Vitalfarbstoffe bei Protozoen ist eine sehr einfache. Man löst die Farbkörper in physiologischer Kochsalzlösung oder Leitungswasser — das allerdings meist alkalisch reagiert — und setzt einen kleinen Tropfen der Lösung entweder direkt zum Deckglaspräparat oder man läßt ihn auf dem Objektträger eintrocknen und setzt das betreffende Material auf die angetrocknete Farbschicht. Hierbei ist zu beachten, daß durch Auflegen und Abheben des Deckgläschens — infolge Ausschaltung bzw. Zuführung von Luftsauerstoff in demselben Zellorgan bald Reduktions-, bald Oxydationserscheinungen hervorgerufen werden können (Michaelis). Wenn es sich um Kulturen handelt, kann man auch einige Tropfen einer etwas konzentrierteren Farblösung zu dem Kulturmedium hinzusetzen. Namentlich für die Prüfung der Giftigkeit derartiger Lösungen (Reihenversuche) ist letzteres Verfahren angezeigt, wobei man mit genau abgemessenen Quantitäten bekannter Farbstoffkonzentrationen zu arbeiten hat.

Vitalfarbstoffe.

Die Anzahl der Farbstoffe, die sich zur Vitalfärbung eignen, ist eine verhältnismäßig sehr geringe. Nachstehend seien die wenigen aufgeführt.

Neutralrot.

Gehört zur Gruppe der Eurodine und wird in Verdünnungen von 1: 3000 und darüber benutzt. Es ist wohl der vielseitigste der bisher bekannten Vitalfarbstoffe. Er färbt saure Zellelemente kirschrot, alkalische gelbrot. Auf seine sonstigen wertvollen Eigenschaften ist bereits weiter oben hingewiesen worden. Ausführliche Angaben hierüber finden sich bei Ehrlich, Mayer, Fischel, Plato, Prowazek.

Neutralviolett.

Wirkt ähnlich wie Neutralrot, ist aber giftiger als dieses.

Bismarckbraun (Vesuvin, Manchesterbraun).

Wird in Verdünnungen von 1 : 3000, für das Studium der Nahrungsvakuolen in einer solchen von 1: 20 000—30 000 angewandt. Das Protoplasma wird meist gelblich, Granulationen rotbraun gefärbt.

Brillantkresylblau.

Ein von Ehrlich, Ascoli und Levaditi eingeführtes Oxacin, ist von ausgezeichneter und zugleich auch metachromatischer Wirkung (violett und blau).

Methylenblau rectif. (Methylenblau BX. wird schlechter vertragen) ist wenig giftig und färbt — besonders aus schwach alkalischer Lösung — manche plasmatischen Einschlüsse ziemlich intensiv. Zusatz von organischen Säuren verhindert die Färbung (Prowazek).

Azur I und Azur II wird zur Vitalfärbung der Spirochäten benutzt und wirkt ähnlich, nur noch intensiver als Methylenblau.

Nilblausulfat und Nilblauchlorhydrat wurde von Fischel mit Erfolg benutzt. Die mit dem Sulfat behandelten Objekte entfärben sich, in reines Wasser gebracht, sehr bald im Gegensatz zu den mit dem Chlorhydrat tingierten (Fischel).

Auramin.

Diazingrün (Kalle). Ein nicht verküpender Farbstoff (Diäthylsafraninazodimethylanilin) ist nach Michaelis zur Prüfung auf stattgefundene Reduktionen

besonders geeignet, weil es sich bei der Reduktion in zwei ungefärbte Verbindungen spaltet, deren eine (Leuco-Diäthylsafranin) sich bei nachfolgender Oxydation rot färbt, während die grüne Farbe nicht mehr regeneriert wird. Eine Rotfärbung zeigt somit stets eine stattgehabte Reduktion an.

Malachitgrün zeichnete sich (nach FISCHEL) durch sehr geringe Giftwirkung bei Salamanderlarven aus, durchtränkte das ganze Gewebe gleichmäßig, elektiv färbte es aber nur die Körnchen in den Zellen der Hautsinnesorgane und Drüsenöffnungen.

Alizarin. Bei Salamanderlarven konnte FISCHEL mit diesem Farbstoff, der in sehr dünner Lösung lange Zeit einwirken mußte, in den Interzellularlücken zahlreiche kleinste braunrote Körnchen zur Darstellung bringen.

Orange.

Färbt saure Elemente rot, alkalische gelb.

Tropäolin 00.

Färbt saure Elemente gelbrot, alkalische gelb.

Kongorot.

Färbt alkalische Elemente und organische Säuren rot, freie Mineralsäuren blau.

Dimethylamidoazobenzol.

Färbt Plasma gelb, manche Nahrungsvacuolen fuchsinrot.

Zur eingehenderen Orientierung über die neueren Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Vitalfärbung seien u. a. die einschlägigen Arbeiten von ALTMANN, FISCHEL, PROWAZEK, PLATO, MICHAELIS, HEIDENHAIN empfohlen, in denen zum größten Teil auch auf die andere reichhaltige Literatur hingewiesen ist.

(Abgeschlossen am 1. Juli 1910.)

J. Literaturverzeichnis.

ABEL, Bakteriologisches Taschenbuch. 12. Aufl. Würzburg 1908.
ALTMANN, Die Elementarorganismen und ihre Beziehung zu den Zellen. 2. Aufl. Leipz. 1892.
Derselbe, Die vitalen Leistungen des Organismus. Arch. f. Anat. u. Physiol. Anat. Abt. 1899.
APATHY, Die Mikrotechnik der tierischen Morphologie. Leipzig 1896.
ASCOLI, Über Plasminsäure. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 28. 1899. S. 426—38. Referat im Centralbl. 1900. I. S. 43.
BENDA, Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. 1900. S. 173.
BERG, Archiv f. mikroskop. Anat. Bd. 62. 1903. S. 367 u. Bd. 65. 1904. S. 301.
BERTARELLI und VOLPINO, Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 40. 1905. Heft 1.
BERTHOLD, Studien über Protoplasmamechanik. Leipzig 1886.
BLOCHMANN, Arch. f. Protistenkunde. 1905. Bd. 6.
BORGERT, Zool. Jahrb. Bd. 14. 1900. S. 207.
BOVERI, Zeitschr. f. Naturw. Bd. 21. Jena 1887.
BRANDT, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1878. S. 563.
Derselbe, Biol. Centralbl. Bd. I. 1881. S. 202.
BRASS, Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. 1884. S. 39.
BREINL, Annals of trop. Med. and Parasitology. Bd. I. 1907. S. 441.
BÜTSCHLI, Untersuchungen über mikroskopische Schäume u. d. Protoplasma. Leipzig 1892.
BURRI, Das Tuscheverfahren. Jena 1909.
CARNOY, La cystodiérèse chez les Arthropodes. La Cellule. T. I. 1885.
CARNOY et LEBRUN, La Cellule. T. 12 et 13.
DEMPWOLFF, Bluttersuchung auf Malaria im Tropfpräparat. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. XII. 1908. S. 435.
EHRLICH, P., Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin 1885.



Ehrlich, P., Über die Methylenblaureaktion der lebend. Nervensubstanz. Deutsche med. Wochenschr. 1886.
Derselbe, Über schmerzstillende Wirkungen des Methylenblau. Deutsche med. Wochenschr. 1890.
Derselbe, Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. (Gesam. Mitt.) Berlin 1891.
Derselbe, Vortrag über das Neutralrot im Verein f. innere Medizin. Referat. Münch. med. Wochenschr. 1894.
Derselbe, Über die Beziehungen von chem. Konstitution, Verteilung u. pharmakologischer Wirkung. Vortrag. Festschr. f. Leyden. 1. Bd. 1898.
Ehrlich und Lazarus, Normale und pathologische Histologie des Blutes.
Fischel, Untersuchungen über vitale Färbung. Anat. Hefte. Abt. I. H. 52/53. 1901.
Derselbe, Färbungen, aus Enzyklop. d. mikroskop. Technik. 1. Bd. 1903.
Fischer, Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899.
Flemming, Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig 1882.
Derselbe, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 1884. S. 349.
Frühwald, Münch. med. Wochenschr. 1909. Nr. 49. S. 2523.
Gaidukow, Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie in der Biologie und Medizin. 1910.
Georgievics, Über das Wesen des Färbeprozesses. Sitzungsber. math.-nat. Cl. Wiener Akad. Bd. 103. Abt. IIb. 1894.
Giemsa, Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 32. 1902. S. 307 u. Bd. 37. 1904. S. 308.
Derselbe, Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 17.
Derselbe, Deutsche med. Wochenschr. 1909. Nr. 40.
Derselbe, Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 12 u. Centralbl. f. Bakt. I. 1910.
Derselbe und Prowazek, Wirkung des Chinins auf die Protistenzelle. Beiheft 5 z. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene 1908. S. 88.
Derselbe, Münchener med. Wochenschr. Nr. 47. 1910.
Gins, Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 52. 1909. S. 620.
Hecht und Wilenko, Wien. klin. Wochenschr. 1909. S. 932.
Heidenhain, Plasma und Zelle. Jena 1907.
Derselbe, Über die Haltbarkeit mikroskopischer Präparate usw. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. 1908. S. 397.
Höber, Biochemische Zeitschr. Bd. 20. S. 56. 1909.
Hoffmann und Beer, Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 22.
Hoffmann, Monatshefte f. prakt. Dermatologie. 1909. S. 327.
Jenner, Lancet. 1899. S. 370.
Jost, Zeitschr. f. Botanik 1. S. 362. 1909 u. Vorlesung. über Pflanzenphysiologie. 2. Aufl.
Koch, Rob., Schlußbericht v. d. deutsch. Exped. z. Erforschung d. Schlafkrankheit. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 46. S. 1889.
Laveran, Compt. rend. Soc. Biol. 1900.
Lee und Mayer, Grundzüge der mikroskopischen Technik. 3. Aufl. 1907.
Leishman, Brit. med. Journal. 21. Sept. 1901.
Levaditi, Journ. d. Physiol. et de Path. général. 1901. Nr. 3.
Derselbe, Annal. Institut Pasteur. N. 1. 25/103. Vol. 20. S. 43.
Derselbe, Compt. rend. Soc. Biol. Vol. 60. Nr. 3. 1906.
Liebermann, Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft 21.
Derselbe, Pflügers Arch. Bd. 47. S. 155.
Derselbe, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1889. S. 210 u. 225.
Loisel, Contribution à l'histophysiologie des éponges. Journ. de l'anat. et de la Physiol. 34 année 1898.
Mallory, Journ. Exper. Med. 1900. Vol. 5. Referat in Zeitschr. f. wissen. Mikrosk. Bd. 18. 1901. S. 175.
Maurer, Centralbl. f. Bak. Abt. I. Bd. 28. S. 114 und Bd. 32. S. 695.
May-Grünwald, Centralbl. f. innere Medizin. Nr. 11. 1902. S. 265.
Mayer, P., Sitzungsber. d. naturw. Vereins Lotos 1896.

Mayer, M., Über die Entwicklung von Halteridium. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene B. 14. 1910. S. 197.
Meyer, Arthur, Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Bot. Zeitschr. 1904.
Michaelis, L., Einführung in die Farbstoffchemie für Histologen. Berlin 1902.
Derselbe, Das Methylenblau und seine Zersetzungsprodukte. Centralbl. f. Bakt. B. 29. S. 763.
Neuberg und Pollak, Biochem. Zeitschr. 23. 515. 1910.
Dieselben, Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. Nr. 11. S. 2060. 1910.
Nietzki, Chemie der organischen Farbstoffe. 4. Aufl. Berlin 1901.
Nirenstein, Zeitschr. f. allg. Physiol. herausgeg. von Verworn 1905.
Nocht, Centralbl. f. Bakt. 1899. Bd. 25.
Overton, Jahrb. der wissensch. Botanik. Bd. 34. 1900.
Pappenheim, Grundriß der Farbchemie 1901.
Derselbe, Färbung der Plasmazellen. Arch. f. path. Anatom. Bd. 157. S. 164 u. 166.
Pelet, Über Verbindungen von Farbsäuren und Farbbasen usw. Zeitschr. für Chemie und Industrie der Kolloide. Bd. II. 1907/08. S. 216.
Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. 2. 342.
Plato, Berl. klin. Wochenschr. 1899.
Derselbe, Über die vitale Färbbarkeit der Phagocyten usw. mit Neutralrot. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 56. 1900.
Pohl, Bemerkungen über künstlich dargest. Eiweißnukleine. Zeitschr. f. physiolog. Chemie 13. 1889. S. 292.
Prowazek, Vitalfärbungen mit Neutralrot an Protozoen. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. 63. 1898.
Derselbe, Chlamydozoa (zusammenfassende Übersicht). Arch. f. Protistenkunde. B. X. 1907. S. 337.
Derselbe, Taschenbuch der mikroskopischen Technik der Protistenkunde. 2. Aufl. 1909.
Derselbe, Einführung in die Physiologie der Einzelligen. 1910. S. 15.
Przemycki, Sitzungsberichte der Gesellsch. f. Morphologie in München. 1899. Heft 1.
Reichenow, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. 23. H. 1. 1909.
Reuter, Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 30. 1901. S. 248.
Romanowsky, Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria, deutsch von P. Werner Petersburg 1891.
Rosenbusch, Beihefte z. Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. 1908.
Derselbe, Arch. f. Protistenkunde. Bd. 15. S. 263. 1909.
Rosenhauer, Über die Beobachtung von lebenden Mikroorganismen auf festen Nährböden. Centralbl. f. allg. Path. 1909 Bd. 20 Nr. 23. S. 1067.
Ross, The thik film process usw., Thompson Yates laboratories Rep 1903. Vol. V. part I. siehe auch Ruge, Malariakrankheiten.
Ruge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 33. 1900.
Derselbe, Malariakrankheiten. 2. Aufl. Jena 1906.
Ruhland, Jahrbücher f. wissensch. Botanik 46, 1. 1908.
Derselbe, Berichte d. deutsch. botan. Gesellschaft 26, 772, 1909. Biochem. Zeitschr. Bd. 22. S. 409. 1909.
Ruzicka, Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie Bd. 22. 1905.
Derselbe, Zur Kenntnis der Natur und Bedeutung des Plastins. Arch. f. Zellforschung 1908. Bd. I., S. 587.
Schaudinn, Studien über krankheitserregende Protozoen. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt. Bd. 19. S. 169.
Derselbe, Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrbücher. Abt. f. Morphologie. 1900 und Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt. Bd. 18. 3. Heft. 1902.
Schilling, Tropenhygiene. Leipzig 1909.
Schmorl, Die pathol.-histologischen Untersuchungsmethoden. Leipzig 1909.
Schüffner, Deutsches Archiv f. klin. Medizin. Bd. 64. 1899 und Bd. 71. 1901.
Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Breslau 1887.

Tellyesniczky, Über die Fixierungs-(Härtungs-)Flüssigkeiten. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 52. 1898.

Unna, Arch. f. mikrosk. Anatomie. Bd. 30. 1887.

Derselbe, „Plasmazellen“ in Enzyklopäd. der mikroskop. Technik.

Witt, Färberzeitung. Berlin 1890/91. Heft 1.

Wright, Journ. of medical Research. Vol. VII. Nr. 1.

Zacharias, E., Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. Progressus Rei Botanicae. Jena 1909.

Ziemann, Über Malaria und andere Blutparasiten. Jena 1898.

Das System der Protozoen.

Von

Prof. Dr. **Max Hartmann**, Berlin.

Diejenigen Abteilungen der Einzelligen, welche für gewöhnlich und so auch in diesem Werke zu dem Stamme der Protozoen oder tierischen Protisten zusammengefaßt werden, haben kein Anrecht als eine natürliche Gruppe zu gelten, wie schon BÜTSCHLI in seinem klassischen Protozoenwerk (1880—82, I. Bd., Einleitung S. 17) hervorgehoben hat. Finden wir doch vor allem bei den Mastigophoren Angehörige, die dem pflanzlichen Leben physiologisch sehr nahe treten und deren nächste Verwandte direkt als einzellige Pflanzen (Algen) gelten, von denen sich in lückenloser Reihe die übrigen heteroplastiden Algen und somit die höheren Pflanzen ableiten lassen. Schon bei der Abgrenzung des Protozoenstammes stoßen wir somit auf die Schwierigkeiten, denen wir bei jeder systematischen Gruppierung auf genealogischer Grundlage begegnen. Denn wie BÜTSCHLI sagt „klebt jeder Klassifikation auf genealogischer Grundlage insofern etwas Willkürliches an, als wir gezwungen sind, Gruppen beginnen zu lassen. Wo dies geschehen soll, wird stets Sache des Übereinkommens sein und um so willkürlicher erscheinen, je zahlreicher die Übergangsformen sich erhielten. Bei dem Bestreben naturgemäße Grenzen der systematischen Gruppen zu finden, kann uns wohl der Grundsatz leiten, dem Inhalt jeder Gruppe ein einheitliches morphologisches Gepräge zu geben, d. h. nichts aufzunehmen, was in seinem Bau weit über die Organisation der Mehrzahl hinausgeht. Ebenso aber auch nichts auszuschließen, was seiner morphologischen Entwicklung nach in den Rahmen der Gruppe fällt“. Wenn wir an diesem von BÜTSCHLI ausgesprochenen Grundsatze festhalten, so kann man doch auf genealogischer Grundlage wie im ganzen Organismenreich so auch hier bei den Protozoen, Klassifikationen aufstellen, die ein möglichst natürliches und zugleich übersichtliches Bild der betreffenden Organismengruppen geben, ohne daß dasselbe zu sehr durch phylogenetische Spekulationen bedingt ist.

In einem derartigen System müssen sich natürlich die Fortschritte, die die Erforschung der Morphologie und Entwicklung einer Gruppe erzielt hat, ohne weiteres ausprägen und jedes neue unerwartete Resultat wird entsprechende Wandlungen im System im Gefolge haben. Daher ist es natürlich, daß gerade die parasitischen Gruppen unter den Protozoen dank des außerordentlich intensiven Studiums des letzten Jahrzehnts die meisten Wandlungen auch in systematischer Hinsicht erfahren haben.

Früher teilte man allgemein die Protozoen in 4—5 einzelne Klassen:

I. Klasse *Sarkodina* oder *Rhizopoda*,
II. „ *Mastigophora*,
III. „ *Sporozoa*,
IV. „ *Infusoria*, mit den beiden Unterklassen.
1. Unterklasse *Ciliata*,
2. „ *Suctoria*.

Diese Klasseneinteilung gründet sich vorwiegend auf die Bewegungsorgane mit Ausnahme der rein parasitischen Sporozoen, bei denen infolge ihres Parasitismus dieselben rückgebildet sind. Doflein (1902) hat dann, speziell mit Rücksicht auf die früher nur wenig bekannten Fortpflanzungs- und Befruchtungsvorgänge der drei ersten Klassen vorgeschlagen, dieselben unter dem Namen *Plasmodroma* den Infusorien als *Ciliophora* gegenüber zu stellen. Er charakterisiert diese Unterstämme neuerdings (1909) folgendermaßen:

„1. Unterstamm: **Plasmodroma.** Protozoen mit Pseudopodien oder Flagellen als Fortbewegungsorganellen, einem oder mehreren meist bläschenförmigen Kernen, iso- oder anisogamer Befruchtung, und einem meist dicyklischen Entwicklungskreis, in dem geschlechtliche Generationen mit ungeschlechtlichen, Gameten und Agameten, alternieren.

2. Unterstamm: **Ciliophora.** Protozoen mit zahlreichen Cilien als Bewegungsorganellen, mit einem oder mehreren dicht gebauten Hauptkernen und einem bis vielen bläschenförmigen Nebenkernen (oder selten zahlreichen der letzteren Art allein) versehen. Befruchtung durch anisogame Verschmelzung oder durch Austausch von Kernsubstanzen ohne Verschmelzung der Zelleiber. Vermehrung durch einfache Teilung oder durch Knospung. Die Befruchtung bedingt keine besondere Fortpflanzungsform."

Diese Einteilung war zum großen Teil wohl dadurch beeinflußt, daß die Infusorien im Bau und Entwicklung von allen übrigen Protozoen sich sehr verschieden verhalten und daher früher völlig isoliert standen, während die übrigen drei Klassen mehr oder minder erkennbare Beziehungen untereinander aufweisen. Aus diesen praktischen Gesichtspunkten habe ich früher (Hartmann 1907) auch dieser Einteilung von Doflein zugestimmt. Inzwischen haben wir aber sowohl von den Ciliophoren, wie den Plasmodromen Organisationsverhältnisse und Zeugungskreise kennen gelernt, die sämtliche von Doflein angegebenen Kriterien aufheben. Ich erwähne hier nur auf der einen Seite das Fehlen somatischer Kerne (Macronucleen und die anisogame Merogamie bei Opalinen (Metcalf 1909), was speziell für viele Rhizopoden und Sporozoen charakteristisch ist, auf der anderen Seite das Vorhandensein einer dauernden Doppelkernigkeit und das Fehlen eines dicyklischen Entwicklungskreises bei manchen Rhizopoden. Außerdem hat das Studium der Trichonymphiden Organisations- und Entwicklungsverhältnisse aufgedeckt, die teils Flagellatencharakter, teils ausgesprochenen Ciliatencharakter erweisen (Hartmann 1910). Dadurch wird für diese Cilien tragenden Protozoen eine neue Klasse nötig, die etwa zwischen Mastigophoren und Ciliaten einzureihen ist und die oben erwähnte isolierte Stellung der letzteren aufhebt. Die verschiedenen Klassen der sogenannten Plasmodromen haben außerdem in ihren höheren Vertretern derart extreme Ausbildung genommen, daß eine Vereinigung derselben in eine Obergruppe schon deshalb kaum angängig ist (vgl. z. B. eine Foraminifere und eine Dinoflagellate).

Daher ist es richtiger, wieder zu dem früheren Modus zurückzukehren und eine größere Anzahl gesonderter Klassen nebeneinander zu stellen. Ja, es ist sogar nötig, die Zahl dieser Klassen gegenüber früher noch um zwei zu vermehren.

Die Vermehrung der Klassen kommt zunächst durch die Aufteilung der Klasse der Sporozoen, die ich 1907 in Weiterführung der SCHAUDINN'schen Anschauungen vorgeschlagen habe, indem ich die von SCHAUDINN und METSCHNIKOFF (s. MESNIL 1899) aufgestellten Unterklassen *Telosporidia* (SCHAUD.) oder *Exosporea* (METSCHN.) und der *Neosporidia* (SCHAUD.) oder *Endosporea* (METSCHN.) zu zwei selbständigen Klassen erhob. Gerade durch die neueren Forschungen über Cnidosporidien wird dieser Schritt noch mehr gerechtfertigt und speziell verschiedene neuere Angaben über Myxosporidien haben meiner Meinung nach in überzeugender Weise die Beziehungen derselben zu Rhizopoden dargetan. In ihrer gesamten Organisation und Entwicklung, speziell auch bei der auch den Telosporidien gemeinsamen Sporenbildung, sind sie so sehr verschieden von den letzteren trotz vielfach gleicher Lebensweise, daß ich DOFLEIN's (1909 S. 613) Meinung, daß das Vorkommen von Zwischenformen nicht ausgeschlossen erscheint, nicht beipflichten kann. Wenn auch die von mir angenommene Abstammung der Telosporidien von Flagellaten zurzeit noch hypothetisch ist, so scheint mir wenigstens ihre verschiedene Abstammung feststehend. Jedenfalls sind sie, und das ist zunächst das wichtigste, in Bau und Entwicklung so grundverschieden, daß eine Trennung unbedingt geboten erscheint. Denn außer beschalten Fortpflanzungskörpern (sogenannten Sporen), ein Charakter, der aber auch manchen Rhizopoden (Amöben und Myxomyceten) zukommt, ist es nicht möglich, ein gemeinsames Merkmal anzugeben. Aus später zu erörternden Gründen wähle ich für die *Neosporidia* (SCHAUD.) den von DOFLEIN (1898) für einen Teil derselben vorgeschlagenen Namen *Cnidosporidia*.

Da wir ferner nach meinen oben erwähnten Studien über Trichonymphiden, die bisher meist als Anhang bei den Flagellaten oder Ciliaten abgehandelt wurden, für dieselben eine besondere Klasse aufstellen müssen, so erhalten wir folgende 6 Klassen von Protozoen:

1. Klasse *Sarcodina*,
2. ,, *Cnidosporidia*,
3. ,, *Mastigophora*,
4. ,, *Telosporidia*,
5. ,, *Trichonymphida*,
6. ,, *Infusoria*.

Man könnte nun die zwei ersten Klassen als Amöbenreihe, die vier letzten als Flagellatenreihe zu Obergruppen zusammenfassen und einander gegenüberstellen. Doch enthält eine derartige Gruppierung schon reichlich viel phylogenetische Spekulation und man könnte sie höchstens aus didaktischen Gründen befürworten.

Als Anhang zu dem ganzen Stamm der Protozoen werden von uns zum Schluß noch die *Chlamydozoa* (PROWAZEK 1907) angereiht, Mikroorganismen, über die sich zurzeit wegen ihrer Kleinheit morphologisch und entwicklungsgeschichtlich nichts Sicheres aussagen läßt, und die daher nicht richtig klassifiziert werden können.

Gehen wir nun zur Charakterisierung und weiteren Einteilung der einzelnen Klassen über.

1. Klasse: *Sarcodina*.

In der Abteilung der *Sarcodina* fassen wir mit BÜTSCHLI (1880—82) die Gesamtheit der jenigen Protozoen zusammen, welche während der Hauptperiode ihres tätigen (beweglichen) Daseins mittels einfachster Protoplasmabewegung, also entweder durch einfaches Hinfließen oder durch Entwicklung nicht schwingender protoplasmatischer Fortsätze wechselnder Gestalt den Ortswechsel vollziehen, wobei dann ihr Körper mannigfaltigen Gestaltsveränderungen unterworfen ist. Auch die Nahrungs-

aufnahme wird mit Hilfe solcher Protoplasmabewegungen (Pseudopodien) bewerkstelligt. Die Fortpflanzungs- und Befruchtungsvorgänge sind sehr verschiedenartig bei den einzelnen Untergruppen.

Neuerdings werden die *Sarcodina* oder *Rhizopoda* im weiteren Sinne meist in eine Anzahl gleichgestellter Ordnungen eingeteilt, so z. B. bei Doflein in 1. *Amoebina,* 2. *Foraminifera,* 3. *Heliozoa,* 4. *Radiolaria* und 5. *Mycetozoa.* Die Abgrenzung der drei letzteren Ordnungen ergibt sich sehr ungezwungen und natürlich. Sie ist daher auch überall in gleicher Weise angenommen. Dagegen herrschen große Meinungsverschiedenheiten über die Abgrenzung zwischen den Amöben und den Foraminiferen. Im Anschluß an F. E. Schulze werden häufig an ihrer Stelle drei Ordnungen angenommen, und nach der Art der Pseudopodien charakterisiert als *Lobosa, Filosa* und *Reticulosa.* Das wäre eine sehr bequeme Einteilung. Doch werden bei derselben, wie schon Bütschli hervorgehoben hat und wie neuere cytologische und entwicklungsgeschichtliche Beobachtungen klar zeigen, nah verwandte, im Bau und Fortpflanzung übereinstimmende Formen auseinandergerissen, andere wieder, die starke Differenzen aufweisen, vereinigt.

Mit Rücksicht auf die vielfachen nahen Beziehungen zwischen nackten und beschalten Formen und die verschiedenen Übergangsformen zwischen Lobosen, Filosen und Retikulosen, sowie in Anbetracht der ungenügenden Kenntnisse gerade über diese wichtigen Übergangsformen, erscheint es mir am zweckmäßigsten, wieder zu der Einteilung von Bütschli zurückzugehen, der alle diese Formen unter dem Namen *Rhizopoda* als Unterklasse den *Heliozoa* und *Radiolaria* zur Seite stellte.

Die weitere Einteilung dieser Unterklasse in Ordnungen kann vorerst nur als eine provisorische gelten. Wir bringen zunächst sämtliche unbeschalte Formen in die erste Ordnung der *Amoebina.* Da dem Charakter der Nacktheit in systematischer Beziehung sicher nur ein geringer Wert beizumessen ist, und voraussichtlich manche von den hierher gerechneten Formen nur nackte Entwicklungsstadien von anderen eventuell beschalten Rhizopoden sind, so ist die Charakterisierung dieser Gruppe vor der Hand eine sehr ungenügende und genauere Untersuchungen werden voraussichtlich hier noch viele Änderungen zeitigen. Da jedoch zunächst nichts Besseres gebracht werden kann, müssen wir uns damit begnügen. Den großen Rest der beschalten Rhizopoden teilen wir dann noch in zwei weitere Ordnungen, zweitens die *Testacea* und drittens die *Foraminifera* oder *Thalamophora.* Die letzteren sind in ihrer Mehrzahl ziemlich gut charakterisiert. Es sind Formen, die fast alle während des größten Teiles des Lebens vielkernig sind; sich, soweit bekannt, stets durch multiple Teilung vermehren und einen mehr oder minder ausgesprochenen Generationswechsel zwischen einer geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Vermehrung besitzen. Es handelt sich ausschließlich um Meeresformen mit retikulosen Pseudopodien.

Die zweite Gruppe, die *Testacea* ist nicht so leicht zu kennzeichnen wie die erste und dritte, da sie nach beiden Seiten hin Zwischenformen aufweist. Zunächst handelt es sich um Formen, die alle nur einkammerige Schalen besitzen. Soweit bekannt, scheint ihnen während der Hauptepoche ihres Lebens stets ein einziger Primärkern zuzukommen. Eine besondere geschlechtliche Vermehrung durch multiple Teilung besitzen sie vermutlich alle, dagegen verläuft die gewöhnliche Fortpflanzung meist noch durch einfache Zweiteilung und ein feststehender Generationswechsel wie bei den Foraminiferen ist noch nicht ausgebildet. Die Einteilung der *Sarcodina* gestaltet sich mithin folgendermaßen:

1. Unterklasse: *Rhizopoda.*
   1. Ordnung: *Amoebina,*
   2. „ *Testacea,*
   3. „ *Foraminifera.*
2. Unterklasse: *Heliozoa.*
3. Unterklasse: *Radiolaria.*
4. Unterklasse: *Mycetozoa.*

2. Klasse: *Cnidosporidia.*

Die Cnidosporidien sind ausschließlich parasitische Formen und sind besonders durch die am Ende ihres vegetativen parasitischen Lebens gebildeten typischen Sporen charakterisiert, die eine oder mehrere sogenannte Polkapseln enthalten. SCHAUDINN hatte früher die hierherzurechnenden Gruppen *Neosporidia* genannt, weil bei den damals am besten bekannten Formen, den Myxosporidien, in den vielkernigen Individuen meist alle Stadien der Sporenbildung nebeneinander angetroffen wurden und man daher fälschlicherweise annahm, daß das einzelne vielkernige Individuum weiter wachse und stets neue Sporen zu bilden vermöge. Wie die neueren Untersuchungen (SCHRÖDER 1907, KEYSSELITZ 1908) jedoch ergaben, trifft diese Annahme nicht zu, indem auch hier das Individuum mit der Sporenbildung sein Ende findet, so daß ein Unterschied in dieser Beziehung gegen die Telosporidien nicht besteht, wie KEYSSELITZ (1908) und MRAZEK (1910) mit Recht betont haben. Doch sind die sonstigen Unterschiede gegenüber den letzteren durch diese Untersuchungen nur noch mehr zutage getreten und ihre Trennung besteht daher zurecht. Die primitiven Formen weisen mit ziemlicher Sicherheit auf Beziehungen zu Sarkodinen, speziell Amöben und Myxomyceten hin. Da der Name *Neosporidien* nicht mehr zutrifft, so schlage ich für die Klasse den Namen *Cnidosporidia* vor, den DOFLEIN für einen Teil derselben eingeführt hatte. Das ist um so mehr berechtigt, als jetzt durch ERDMANN für die Sarkosporidien, die DOFLEIN seinen Cnidosporidien gegenübergestellt hatte, das Vorhandensein eines schon von VAN EECKE sowie LAVERAN und MESNIL angegebenen Polfadens resp. Polkapsel bestätigt wurde, sie mithin auch Cnidosporen besitzen.

Die Einteilung der Klasse in vier Ordnungen ergibt sich mit CAULLERY und MESNIL 1905, DOFLEIN 1909 usw. sehr ungezwungen in

1. *Microsporidia,*
2. *Sarcosporidia,*
3. *Myxosporidia,*
4. *Actinomyxidia.*

Man muß diese 4 Ordnungen als Parallelgruppen von gleicher Abstammung betrachten, wobei die beiden letzten Gruppen einen hohen Organisationsgrad erreicht haben.

Die von CAULLERY und MESNIL als 5. Ordnung angenommenen *Haplosporidia* sind noch zu wenig erforscht. Sie werden daher vor der Hand am besten nur als Anhang den Cnidosporidien angegliedert.

3. Klasse: *Mastigophora.*

Die Mastigophoren sind mit einer oder einigen wenigen Geißeln oder Flagellen ausgestattet, die der Bewegung und teilweise auch der Nahrungsaufnahme dienen. BÜTSCHLI hatte sie in drei Unterklassen eingeteilt: 1. *Flagellata,* 2. *Dinoflagellata,*

3. *Cystoflagellata.* Durch neuere Untersuchungen (vgl. Jollos 1910) sind jedoch die engen Beziehungen der beiden letzten Gruppen erwiesen, die daher am besten wieder, wie das früher schon Stein getan hatte, in die Unterklasse der Dinoflagellaten vereinigt werden als zwei Ordnungen, die der *Peridinea* (gleich Dinoflagellaten im engeren Sinne) und der *Cystoflagellata.*

Die Einteilung der 1. Unterklasse der Flagellaten ist von Klebs, Blochmann und Senn weiter modifiziert und ausgebaut worden. Von zoologischer Seite werden gewöhnlich im Anschluß an Klebs und Blochmann folgende 5 Ordnungen angenommen: 1. *Protomonadina,* 2. *Polymastigina,* 3. *Euglenoidea,* 4. *Chromomonadina* und 5. *Phytomonadina.*

Da auf Grund der neueren Forschungen über Blutflagellaten (Trypanosomen usw.) und Hämosporidien die enge Zusammengehörigkeit dieser beiden Gruppen erkannt wurde, habe ich (Hartmann 1907) dieselben unter dem Namen *Binucleata* vereinigt und sie zu einer 6. besonderen Flagellatenordnung erhoben, da sich diese Flagellatenformen von den übrigen durch einen besonderen lokomotorischen Kern (Geißelkern, Blepharoplast) auszeichnen. Schon früher hatte Prowazek (1902) cytologische Gesichtspunkte, speziell den Kernbau und die Art der Geißelinsertion, für die weitere Ausgestaltung des Systems befürwortet. Hartmann und Chagas (1910) haben nun kürzlich auf Grund neuer eigener Studien sowie des sonstigen vorliegenden Materials auf dieser Basis die bisherigen Gruppen teils noch fester begründet, teils eine weitere Revision des Systems durchgeführt. So wurden mit Senn die Polymastiginen mit den Protomonadinen zu einer Ordnung vereinigt, da sie cytologisch vollkommen übereinstimmen und die größere oder kleinere Zahl der Geißeln keinen Ordnungscharakter darstellt. Die Rhizomastiginen wurden wieder wie bei Bütschli und Senn zur Ordnung erhoben. Auch die von Doflein (1909) in Zweifel gezogene Abgrenzung der Binucleaten von den Protomonadinen wurde fester begründet, da in der Tat keiner Protomonadine ein derartiger Geißelkern zukommt. Die Subklasse der Flagellaten kann danach in sehr natürlicher Weise in folgende 6 Ordnungen gegliedert werden:

1. *Rhizomastigina,*
2. *Protomonadina,*
3. *Binucleata,*
4. *Chromomonadina,*
5. *Euglenoidea,*
6. *Phytomonadina.*

Von diesen Gruppen enthält wohl nur noch die der Chromomonadinen Formen von sehr verschiedenem Charakter, die wohl später noch aufgeteilt werden müssen.

Die Spirochäten, die gewisse Beziehungen zu Flagellaten aufweisen, nach ihrem Bau und ihrer Vermehrung jedoch aus dem Rahmen derselben immerhin stark herausfallen, können vorderhand als Anhang der Klasse der *Mastigophoren* angeschlossen werden.

4. Klasse: ***Telosporidia.*** [1])

Die Telosporidien wurden früher mit den Neosporidien (Cnidosporidien) als Klasse der *Sporozoa* vereinigt. Die Notwendigkeit ihrer Abtrennung von letzteren

[1]) Anm. bei der Korrektur. Léger und Dubosq haben in einer nach Druck dieses Artikels erschienenen Arbeit (Selenococcidium intermedium et la systématique des sporozoaires. Arch. Zool. exp. gén. 5. sér. t. 5) für die hier als Telosporidien zusammengefaßten Formen den Namen „Sporozoa" in einem engeren Sinne beibehalten, ein Vorschlag, dem ich gerne zustimme.

wurde schon oben erörtert. Die Telosporidien sind im erwachsenen Zustand fast sämtlich einkernig. Die meisten Formen (Coccidien und Schizogregarinen) besitzen einen dreifachen Generationswechsel, nämlich: 1. eine ungeschlechtliche multipel sich vermehrende Generation im infizierten Wirt (Schizogonie), 2. eine Geschlechtsgeneration, die bei Gregarinen ebenfalls mit einer multiplen Vermehrung (Gametogonie) verbunden ist, und 3. eine an die Befruchtung sich anschließende, innerhalb einer Cyste sich abspielende Vermehrung (Sporogonie) außerhalb des Wirtes, die der Übertragung dient. Die Schizogonie fällt nur bei den Eugregarinen weg.

Früher hatte man drei Ordnungen unter den Telosporidien angenommen: 1. *Coccidia*, 2. *Hämosporidia* und 3. *Gregarinida*. Da die Hämosporidien mit den Trypanosomen vereinigt und als Ordnung der *Binucleata* bei den Flagellaten untergebracht wurden, so bleiben jetzt nur noch die beiden Ordnungen der Gregarinen und Coccidien. Durch Untersuchungen von Miller (1908), Hartmann und Chagas (1910a) sowie Reichenow (1910) hat sich jedoch herausgestellt, daß ein kleiner Teil der früheren Hämosporidien, nämlich die Familie der Hämogregarinen (mit Ausnahme der Gattung *Lankesterella*) echte Coccidien sind. Sie müssen daher bei den Coccidien untergebracht werden und zwar gehören sie in die Nähe der Familie Adeliden.

5. Klasse: *Trichonymphida*.

Die Trichonymphiden sind nach neuen Untersuchungen von Hartmann (1910) im erwachsenen Zustande wie die holotrichen Infusorien meist total bewimpert, besitzen aber nur einen einzigen großen polyenergiden Kern. Die Jugendstadien und primitiven Formen *(Lophomonas)* haben eine Anzahl am Vorderende inserierter Geißeln, und stimmen hierin, sowie im Kernbau mehr mit den Flagellaten überein. Die Vermehrung erfolgt durch Längsteilung oder durch eine Zerfallsteilung (ähnlich wie bei Gregarinen). Bei letzterer werden Gameten gebildet, die kopulieren. Da somit im Bau wie Fortpflanzung die Trichonymphiden sich von allen übrigen Klassen wesentlich unterscheiden, können sie nicht, wie dies bisher meist geschehen, als Anhang bei den Flagellaten untergebracht werden, sondern beanspruchen eine eigene Klasse.

6. Klasse: *Infusoria*.

Die Infusorien sind Protozoen, deren Körperoberfläche ganz oder teilweise mit Cilien bedeckt ist und die mit wenigen Ausnahmen (Opalinen und *Trachelocerca*) einen großen Makronukleus (somatischer Kern) und einen Mikronukleus (generativer Kern) besitzen. Die Vermehrung geschieht durch Querteilung oder Knospung, die Befruchtung durch Konjugation oder von dieser abgeleitete Heterogamie (mit Ausnahme von *Opalina*). Bezüglich der Einteilung der *Infusoria* sei auf die spezielle Darstellung verwiesen.

Stamm: *Protozoa*.

I. Klasse: ***Sarcodina*** Bütschli.

I. Subklasse: ***Rhizopoda*** v. Siebold.

1. Ordnung: *Amoebina* Ehrenberg.
2. „ *Testacea* M. Schultze.
3. „ *Foraminifera* d'Orbigny.

II. Subklasse: ***Heliozoa*** Häckel.
III. „ ***Radiolaria*** Joh. Müller.
IV. „ ***Mycetozoa*** de Bary.

II. Klasse: ***Cnidosporidia*** Doflein.

1. Ordnung: *Microsporidia* Balbiani.
2. „ *Sarcosporidia* Balbiani.
3. „ *Myxosporidia* Bütschli.
4. „ *Actinomyxidia* Caullery et Mesnil.

Anhang: *Haplosporidia* Caullery et Mesnil.

III. Klasse: ***Mastigophora*** Diesing.

I. Subklasse: ***Flagellata*** Cohn em. Bütschli.

1. Ordnung: *Rhizomastigina* Bütschli.
2. „ *Protomonadina* Blochmann em. Hartm. et Chagas.
3. „ *Binucleata* Hartmann.
4. „ *Euglenoidea* Klebs.
5. „ *Chromomonadina* Blochmann.
6. „ *Phytomonadina* Blochmann.

Anhang: *Spirochaeta.*

II. Subklasse: ***Dinoflagellata*** Bütschli em. Jollos.

1. Ordnung: *Peridinea* Klebs.
2. „ *Cystoflagellata* Häckel.

IV. Klasse: ***Telosporidia*** Schaudinn.

1. Ordnung: *Coccidia* Leuckart.
2. „ *Gregarinida* Aimé Schneider.

V. Klasse: ***Trichonymphida*** Hartmann.

VI. Klasse: ***Infusoria.***

1. Subklasse: ***Ciliata*** Bütschli.

1. Ordnung: *Holotricha* Stein.
2. „ *Heterotricha* Stein.
3. „ *Oligotricha* Bütschli.
4. „ *Hypotricha* Stein.
5. „ *Peritricha* Stein.

II. Subklasse: ***Suctoria*** Bütschli.

Anhang: ***Chlamydozoa*** Prowazek.

Literaturverzeichnis.

Blochmann. 1895. Die mikroskopische Tierwelt des Süßwassers. Hamburg. 2. Aufl.
Bütschli, O. 1880—89. Protozoa. Bd. 1—3. In: Bronn, Klass. und Ordnungen.
Caullery et Mesnil. 1905. Recherches sur les Actinomyxides. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 6.

Doflein, Fr. 1898. Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. VII. Myxosporidien. In: Zool. Jahrb. Abt. Morph. Bd. 9.

Derselbe. 1902. Das System der Protozoen. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 1.

Derselbe. 1909. Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 1909.

Erdmann, Rh. 1910. Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Hammelsarkosporids in der Maus. In: Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Orig. Bd. 53.

Eecke, van. 1892. In: Jaarsverslag path. Inst. Weltewreden Batavia.

Hartmann, M. 1907. Das System der Protozoen. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

Derselbe. 1910. Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Trichonymphiden. In: Festschr. R. Hertwig. Bd. I.

Hartmann, M. et Chagas, C. 1910. Flagellatenstudien. In: Memor. Inst. Oswaldo Cruz. Bd. 2.

Dieselben. 1910a. Vorläufige Mitteilung über Untersuchungen an Schlangenhämogregarin. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 20.

Jollos, V. 1910. Dinoflagellatenstudien. In: Arch. f. Protistk. Bd. 19.

Keysselitz, G. 1908. Die Entwicklung von *Myxobolus Pfeifferi*. I und II. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

Klebs, G. 1893. Flagellatenstudien. In: Zeitschr. f. wiss. Zoolog. Bd. 55.

Metcalf, M. M. 1909. *Opalina*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 13.

Mesnil, F. 1899. Essai sur la classification et l'origine des Sporozoaires. In: Soc. Biol. Paris. Vol. jubil.

Miller, W. W. 1908. *Hepatozoon perniciosum*, a Haemogregarine pathogenic for white rats etc. Dpt. Publ. Health and Marine Hospit. Service Hyg. Lab. Bull. No. 46.

Mrazek, A. 1910. Sporozoenstudien. Zur Auffassung der Mxyocystiden. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 18.

Prowazek, S. v. 1902. Flagellatenstudien, In: Arch. f. Protistenk. Bd. 2.

Derselbe. 1907. *Chlamydozoa*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

Reichenow, E. 1910. *Haemogregarina stepanowi*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 20.

Schaudinn, Fr. 1900. Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. In: Zoolog. Jahrb. Abt. Anat. Bd. 13.

Schröder, Ol. 1907. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien. *Sphaeromyxa sabrazesi*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 9.

Senn, F. 1900. Flagellaten. In: Engler u. Prantl, Natürliche Pflanzenfamilien. Vol. 1. Abt. I a.

Stein, Fr. von. 1878 u. 83. Der Organismus der Infusionstiere. III. Abt.: Der Organismus der Flagellaten oder Geißelinfusorien. 1. u. 2. Hälfte. Leipzig.

Die Dysenterie-Amöben.

Von

Prof. Dr. **Max Hartmann**, Berlin.

Mit Tafel I.

Geschichtliches.

Es ist nicht unsere Absicht, die ganze Geschichte der Amöben-Dysenterie resp. der Dysenterie-Amöben hier abzuhandeln, zumal sich dieselbe meist als eine Geschichte von Irrtümern präsentiert. Der erste, der Amöben als Erreger einer Dysenterie angesprochen hat, war Lösch (1875), der die beobachtete Amöbe *Amoeba coli* nannte. Ihm sind später R. Koch, Kartulis und andere in dieser Ansicht gefolgt. Wenn trotz der Infektionsversuche von Kruse und Pasquale, Kartulis und besonders Jürgens (1902) die ätiologische Bedeutung der Amöben lange Zeit immer wieder mit Recht in Zweifel gezogen werden konnte, so lag das daran, daß im Menschendarm außer pathogenen auch harmlose parasitische Amöben vorkommen können, die lange Zeit von den pathogenen nicht unterschieden werden konnten. Die entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen von Schaudinn (1903) hatten hierin zum ersten Male Klarheit geschaffen. Er zeigte, daß im menschlichen Darm zwei Arten vorkommen, die in Bau und Entwicklung vollkommen verschieden sind und von denen die eine harmlos ist, während die andere nur bei der ulcerösen Dysenterie gefunden wird. Einen großen Teil der Entwicklung der harmlosen Form hatten schon Casagrandi und Barbagallo (1897) richtig beschrieben. Für diese Form behielt Schaudinn den Namen *Entamoeba coli* bei (siehe den folgenden Artikel von Werner). Für die pathogene Art, die einzig Jürgens (1902) bis dahin erkennbar beschrieben hatte, schuf er den Namen *Entamoeba histolytica.*

Man hätte erwarten sollen, daß nach dieser lichtvollen Arbeit nun endlich Klarheit über die Darmamöben und ihre Bedeutung für die Dysenterie in der Literatur Platz greifen würde. Aber das Gegenteil trat ein. Die Konfusion wurde zum Teil noch größer. Es ist dies wohl zwei Umständen zuzuschreiben. Der eine Punkt ist der, daß Schaudinn keine Abbildungen zu seiner vorläufigen Mitteilung gegeben hatte und verschiedene Autoren nun die von ihm beschriebenen morphologischen Strukturen und Vermehrungsvorgänge, speziell der *Entamoeba histolytica,* ganz oberflächlich auffaßten und dann an Amöben zu erkennen glaubten, die sie aus Fäcesproben kranker und gesunder Menschen und Tiere gezüchtet hatten und für identisch mit *Entamoeba histolytica* hielten. Dabei wurden bakterielle Einschlüsse für Chromidienbildung gehalten, und das Abschnüren von Plasmapartikeln für Vermehrungsvorgänge resp. Cystenbildung. Derartige Verwechslungen finden sich in den Arbeiten von Lesage

(1905), Musgrave und Clegg (1904), Walker (1907) und Noc (1909). Diese gezüchteten Amöben haben einen von den parasitären sehr verschiedenen Kernbau, wie sich schon aus den meist ungenügenden Abbildungen der erwähnten Autoren erkennen läßt, und wie Nägler (1909) und Whitmore (1911) eingehend gezeigt haben. Sie gehören alle zur Gruppe der *Limax*-Amöben, deren Cysten weit verbreitet sind.

Noch wichtiger ist der zweite Grund, nämlich der, daß die von Schaudinn genau charakterisierte pathogene Form in den meisten Fällen von Amöben-Dysenterie nicht angetroffen wird, sondern eine andere Art, die einerseits in Bau und Entwicklung der *Entamoeba coli* nahesteht und andrerseits in ihrer Entwicklung, speziell vor der Cystenbildung, Stadien aufweist, für die fast alle von Schaudinn für *Entamoeba histolytica* beschriebenen Charaktere zutreffen. Das hat einerseits zu einem in gewissem Grade berechtigten skeptischen Standpunkt gegenüber den Angaben Schaudinn's geführt (Wenyon 1909, Kuenen 1909), andererseits natürlich zu mancherlei Verwechslungen. Die neue Form war schon Schaudinn bekannt (s. Huber 1909) und Viereck (1907) hat dann zuerst die charakteristischen vierkernigen Cysten derselben beschrieben, während er die vegetativen Formen nicht von der *Entamoeba coli* unterscheiden konnte. Er nannte sie *Entamoeba tetragena*. Gleichzeitig fand Verfasser bei Dysenteriefällen aus Südwest-Afrika *Coli*-artige Amöben, die er aber mit Sicherheit an den feineren Kernstrukturen von der harmlosen *Coli* und der Schaudinn'schen *E. histolytica* differenzieren konnte und die er deshalb für eine neue Art hielt und *Entamoeba africana* nannte (Hartmann und v. Prowazek 1907 Anm.). Nach Auffindung der Cysten konnte ihre Identität mit der von Viereck beschriebenen Form festgestellt werden (Hartmann 1908). Dieselbe Form war auch schon von Huber beobachtet worden und Werner hat des Verfassers Angaben später bestätigt. Weitere Untersuchungen des Verfassers sowie von Whitmore (1911) haben zu der Überzeugung geführt, daß fast alle Fälle von Amöben-Dysenterie durch die *Entamoeba tetragena* verursacht werden und daß es sich auch in den meisten Fällen von Schaudinn, dessen Präparate dem Verfasser zur Verfügung standen, nicht um *Entamoeba histolytica*, sondern um *E. tetragena* handelt. Außerdem wurde noch eine pathogene Art von Koidzumi (1909) als *Ent. nipponica* beschrieben, wobei es sich jedoch, wie unten gezeigt werden soll, nur um Degenerationsformen von *E. tetragena* handelt. Die von Elmassian (1909) ebenfalls als pathogene Art beschriebene *Entam. minuta* ist dagegen, wie aus der Beschreibung des Krankheitsbildes sowie seiner morphologisch-entwicklungsgeschichtlichen Befunde hervorgeht, nicht eine Dysenterieamöbe sondern die gewöhnliche harmlose *Ent. coli*.

Die Angaben von Schaudinn über *Entamoeba histolytica* sind später von Craig 1908, Werner 1908 und mir (1907, 08 und 09) an echten Dysenterie-Amöben unter Zufügung von Abbildungen bestätigt worden. Craig's Bilder der vegetativen Form wie der Chromidien- und Cystenbilder sind allerdings ganz ungenügend und es ist infolge seiner mangelhaften Technik nicht möglich daran *Entamoeba histolytica* von *Entamoeba tetragena* zu unterscheiden. Die von Werner 1908 abgebildeten Formen beziehen sich wohl auch größtenteils auf *Entamoeba tetragena* und zwar handelt es sich bei seinen Chromidienstadien um degenerative Chromidienbildung, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß sein Untersuchungsmaterial fast ausschließlich von infizierten Katzen stammte, bei denen die Amöben meist sehr rasch unter solchen Erscheinungen degenerieren, wie meine Beobachtungen bei *Entamoeba tetragena* gezeigt haben. Auch bei den von mir selbst abgebildeten vegetativen Formen von *E. histolytica* handelt es sich, wie weitere Untersuchungen gezeigt haben, wohl sicher teilweise um degenerierende Individuen von *Entamoeba tetragena*. Ferner liegen in dem Falle von Jürgens (1907), sowie Doflein (1909) nicht wie angegeben *E. histolytica*, sondern *E. tetragena* vor, wie ich mich durch

eigene Untersuchung überzeugen konnte. Dasselbe gilt wohl auch für die Fälle von Noc aus Saigon, sowie wenigstens teilweise für die von Ruge. Ich kann daher gegenwärtig auf Grund eines sehr reichen Beobachtungsmaterials aus den verschiedensten Ländern und auf Grund des Studiums der Originalpräparate von Schaudinn sowie anderer mir von verschiedener Seite freundlichst zur Verfügung gestellter Präparate nur für einen einzigen Fall die Spezifität der *Entamoeba histolytica* anerkennen. Die folgende Schilderung stützt sich vorwiegend auf meine Arbeiten von 1908 u. 09 sowie weitere bisher unveröffentlichte eigene Untersuchungen.

Morphologie und Entwicklung der Dysenterie-Amöben.

I. *Entamoeba tetragena* Viereck em. Hartmann.

a) Vegetative Formen.

Größe: Die Größe der *Entamoeba tetragena* variiert innerhalb weiter Grenzen. In frischen Fällen, bei denen nur vegetative Formen vorhanden sind, beträgt der Durchmesser meist 25—40 μ. Vor der Cystenbildung werden die Formen in der Regel kleiner, durchschnittlich ca. 20 μ. Das kleinste von mir beobachtete Exemplar war ca. 10 μ groß. Da die Größe auch bei den anderen Arten stark variiert, ist es daher nicht möglich auf Grund von Größenunterschieden zu einer Unterscheidung der Arten zu gelangen.

Plasma und Bewegung. Das Aussehen der Amöbe im Leben stimmt ganz mit der Schilderung überein, die Jürgens (1902) und Schaudinn (1903) für *Entamoeba histolytica* so treffend gegeben haben. Da diesen Forschern offenbar ebenfalls in der Hauptsache die *Entamoeba tetragena* vorgelegen hat, ist das nicht weiter verwunderlich. Als Hauptcharakter gegenüber *Entamoeba coli* ist hervorzuheben, daß die Amöbe auch in der Ruhe ein gut gesondertes, meist stark lichtbrechendes homogenes Ectoplasma aufweist, das von dem mit Körnern, Vakuolen, Nahrungsresten (Erythrocyten usw.) durchsetzten, meist weniger lichtbrechenden Endoplasma ziemlich scharf gesondert ist (Taf. I Fig. 1—4). In bezug auf die Lichtbrechung widersprechen sich allerdings die bisherigen Literaturangaben über Dysenterieamöben sehr stark, indem die einen Autoren das Ectoplasma als stärker lichtbrechend bezeichnen (Jürgens), andere umgekehrt (Kruse und Pasquale). Dieser Widerspruch erklärt sich aber sehr einfach. Das Ectoplasma ist immer homogen und ziemlich stark lichtbrechend, das vakuolische, mit Körnern, Flüssigkeitstropfen, Nahrungsresten, Verdauungsprodukten usw. sehr mannigfaltig erfüllte Endoplasma kann dagegen je nach dem Zustand der Verdauung, der Art der Nahrung usw. nicht nur im Aussehen, sondern auch in der Lichtbrechung stark wechseln, so daß es mitunter auch einmal stärker lichtbrechend als das Ectoplasma erscheinen mag. Auf die Verschiedenheit der Lichtbrechung zwischen Endo- und Ectoplasma ist daher kein so großer Wert zu legen, sondern mehr auf die deutliche Sonderung des homogenen Ectoplasmas, was der *Entamoeba coli* nicht in der Weise vorkommt. Das Ectoplasma macht, wie schon Jürgens und Schaudinn hervorgehoben haben, einen glasigen Eindruck. Es ist zäh-flüssig und erscheint homogen.

Die Bewegung geschieht meist durch sog. Bruchsack-Pseudopodien (Taf. I, Fig. 1—3). Dabei reißt plötzlich die Oberflächenhaut an einer kleinen Stelle und das darunterliegende Ectoplasma, ev. mit Endoplasma bricht bruchsackartig heraus und breitet sich über die Haptogenmembran des ursprünglichen Pseudopodiums aus. Das vorgestürzte Endoplasma wird dann in Ectoplasma umgewandelt und umgekehrt

das darunterliegende Ectoplasma in Endoplasma (Ecto-Endoplasmaprozeß nach Rhumbler). An einer benachbarten oder auch ganz entfernten Stelle der Oberfläche der Amöbe wiederholt sich dann wieder derselbe Prozeß; auch findet er häufig an verschiedenen Stellen zugleich statt. Seltener beobachtet man auch einmal ein gleichmäßiges Dahinfließen der ganzen Amöbe mittels eines einzigen Pseudopodiums, wie es von den Limaxamöben bekannt ist. Doch gehört eine derartige Bewegung zu den Ausnahmen. Die hier beschriebene Pseudopodienbildung findet sich niemals bei der *Entamoeba coli*, ein weiteres charakteristisches Merkmal, das zur Unterscheidung dieser beiden Arten bei der Lebend-Untersuchung benutzt werden kann.

Das Endoplasma enthält als Nahrung hauptsächlich rote Blutkörperchen (Taf I, Fig. 4 u. 5), daneben aber auch Leucocyten sowie andere Körperzellenreste, seltener Bakterien im Gegensatz zu *Ent. coli*, die nie Körperzellen, dagegen meist sehr viele Bakterien aufweist. Über das Plasma am fixierten Objekt ist wenig zu sagen; es erscheint sehr deutlich wabig gebaut, viel deutlicher als im Leben, da viele von den Körnern und Einschlüssen gelöst sind. Die Differenzierung in Ecto- und Endoplasma ist nur nach Fixierung in Osmiumgemengen gut erhalten.

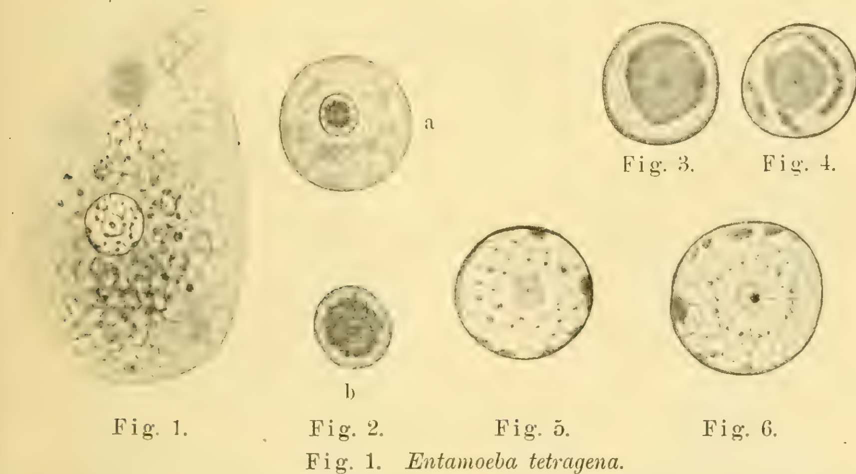


Fig. 1. *Entamoeba tetragena.*

Fig. 1. Gewöhnliche vegetative Form, Fig. 2a sehr kleine vegetative Form, b deren Kern stärker vergrößert, Fig. 3—6 Kerne von vegetativen Formen, cyklische Veränderungen am Caryosom zeigend.

Vergr. Fig. 1 u. Fig. 2a ca. 1300:1, Fig. 2b, 3—6 ca. 2600:1.

Kern. Schon im Leben kann man vielfach deutlich den Kern erkennen. Er stellt sich dar als ein kugeliges Bläschen, das mit einer derben, deutlich doppelt konturierten Membran gegen das Plasma abgegrenzt ist (Taf. I, Fig. 1—3). Bei den Strömungen im Endoplasma behält er stets seine kugelige Gestalt und wird nicht verzerrt, wie dies Schaudinn für den Kern der *Entamoeba histolytica* angibt. Der Kern enthält sehr reichlich Chromatin, das sehr verschieden in dem Linin-Alveolarwerk verteilt sein kann. Bald liegt es in Form feiner Körner in den Knotenpunkten, bald ist es in einzelnen größeren Brocken oder als eine ziemlich gleichmäßige körnige Zone der Membran angelagert. Im Zentrum findet man stets ein größeres oder kleineres Caroysom, in dem man bei geeigneter Differenzierung noch ein kleines Körnchen, ein Centriol nachweisen kann (Fig. 5). Immer findet sich um das Caryosom ein

heller Hof, der gegen den Außernkern durch eine Art Membran abgegrenzt ist. Es ist das die ursprüngliche Grenze des Caryosoms, das infolge von cyklischen Veränderungen die periphere chromatische Zone an den Außenkern abgegeben hat. Manchmal sind zwei derartige Körnchenzonen ineinander geschachtelt (Fig. 6), ein Zeichen, daß derselbe Vorgang sich mehrmals hintereinander wiederholen kann.

Nur bei ganz jungen Amöben, auf deren Entstehung am Schluß zurückzukommen sein wird, findet man einen Kernbau, der von dem eben beschriebenen abweicht, insofern alles chromatische Material in einem großen kompakten Caryosom vereinigt ist (Fig. 2—3). Von hier aus findet man weiterhin dann sämtliche Übergangsstadien des peripheren Abbaues des Chromatins vom Caryosom infolge der oben beschriebenen cyklischen Veränderungen, wie dies durch die Fig. 2—6 klar hervortritt. Dieser außerordentlich deutlich ausgesprochene morphologische Ausdruck der cyklischen Veränderungen ist für die *Entamoeba tetragena* sehr charakteristisch. Man findet ihn bei der *Entamoeba coli* nur in sehr geringem Umfange als helle Zone um das Caryosom, nie aber in dieser Ausbildung. Bei genügender Übung lassen sich daher auf Grund dieser Kernverhältnisse die vegetativen Stadien der harmlosen und pathogenen Amöbe mit Sicherheit voneinander unterscheiden, wie wir das bei einer ganzen Anzahl von Fällen praktisch ausprobiert haben.[1]) . Nur bei den später zu beschreibenden Chromidialtieren ist eine Verwechslung mit *Entamoeba histolytica* möglich, worauf noch zurückzukommen sein wird.

F o r t p f l a n z u n g. Von Vermehrungsvorgängen konnten bei den vegetativen Formen bisher nur Zweiteilungen und auch die nur äußerst selten beobachtet werden.

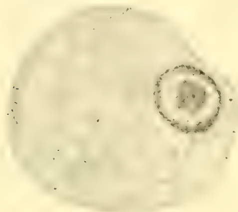


Fig. 7.



Fig. 8.

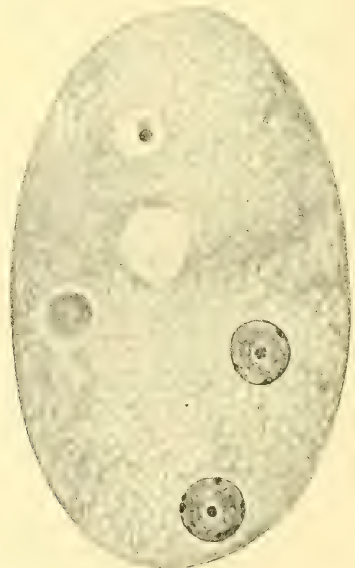


Fig. 9.

Fig. 7—9. *Entamoeba tetragena.* Nach fixiertem und gefärbten Präparat. Fig. 7 Beginn der Kernteilung, Centriol geteilt, Fig. 8 u. 9 Amöben mit 2 Kernen. Vergr. ca. 1300 : 1.

[1]) Bei der *Entamoeba coli* ist ferner bei 20—30 % aller Individuen das Caryosom « n Teilung, worauf allerdings bisher noch nicht aufmerksam gemacht worden ist, was aber als sehr charakteristischer Unterschied gegenüber dem *Tetragena*-Kern ge ten kann.

Dabei teilt sich zunächst der Kern durch eine primitive Mitose, die durch eine hantelförmige Teilung des Centriols eingeleitet wird (Fig. 7). Caryosom und Außenkern bilden zusammen eine sehr primitive Spindel mit über die ganze Figur verteilten, in Längsreihen angeordneten Chromatinkörnern, wobei an den Polen, die manchmal noch durch eine Faser (Centralspindel) verbundenen Centriolen liegen (Fig. 12). Hier und da findet man dann große Tiere mit zwei ruhenden Kernen (Fig. 8 u. 9); die eigentliche Zelldurchschnürung wurde dagegen nicht beobachtet. Eine mehrfache Kernteilung und darauf folgende Schitzogonie wie bei *E. coli* konnte niemals festgestellt werden.

b) Chromidien und Degenerationsformen.

Zu Beginn einer Cystenbildung, die nur äußerst selten zu beobachten ist, trifft man sehr viele Individuen, die sog. Chromidien im Plasma enthalten, sowie eine Menge degenerierender Tiere. Diese Formen haben zu mannigfaltigen Verwechslungen geführt und wurden von Schaudinn selbst, dann von Huber und Werner, teilweise auch von mir (1909) meist zu *Entamoeba histolytica* gerechnet. Da bei derartigen Formen auch sehr häufig die Sonderung in Ecto- und Endoplasma verloren geht, können sie andererseits auch mit *Entamoeba coli* verwechselt werden, wie das Viereck getan hat. Die von Koidzumi (1909) als eine weitere neue pathogene Art beschriebene *Entamoeba nipponica* ist nichts anderes als derartige Degenerationsformen. Davon kann man sich überzeugen, wenn bei einem sicheren Falle von *Entamoeba tetragena,* den man längere Zeit täglich beobachtet hat, diese Stadien und die daran sich anschließende Encystierung auftritt. Das Irreführende dabei wird noch durch den Umstand erhöht, daß fast sämtliche Individuen gleichzeitig diese normale oder degenerative Umwandlung durchmachen.

Die sich chromatisch färbenden Körner und Brocken im Protoplasma, die sog. Chromidien, nehmen, wie man an geeigneten Präparaten beobachten kann, ihre erste Entstehung aus dem Kern (Fig. 10 u. 11). Es handelt sich somit um echte Chromidien, wie auch ihr färberisches und mikrochemisches Verhalten zeigt; sie geben weder die Reaktionen auf metachromatische Körner noch auf Glykogen. Im Plasma nehmen sie dann offenbar stark an Größe und Zahl zu. Es handelt sich somit nicht nur um eine Entledigung überschüssigen vegetativen Kernmaterials, sondern es findet auch direkt eine außerordentliche Vermehrung dieser Substanzen statt, so daß dieselben den eigentlichen Kern in der Regel um ein Vielfaches übertreffen (Fig. 12 u. 13). Die Form dieser Chromidien ist sehr mannigfaltig. Anfangs sind es meist runde oder langgestreckte Körner, häufig mehr spindelförmige Gebilde, ja vielfach dicke Fasern, bei denen man öfters noch eine Zusammensetzung aus einzelnen Körnchen beobachten kann (Fig. 14). Später, während oder noch vor der Encystierung, klumpen sich diese Chromidien zu einem einzigen oder mehreren kompakten Körpern zusammen, die häufig lange ovale Form aufweisen (Fig. 18 u. folg.). Sie färben sich intensiv gleichmäßig mit allen Kernfarbstoffen und sind beträchtlich größer als der Kern.

Diese Chromidialtiere sind in der Regel weit kleiner als die gewöhnlichen vegetativen Individuen (Fig. 10—13). Es kommt das durch rasch aufeinanderfolgende Teilungen zustande. Während dieser Stadien sieht man denn auch weitaus am häufigsten Kernteilungsbilder sowie zweikernige Individuen (Fig. 12).

Von den gewöhnlichen vegetativen Formen unterscheiden sich die Chromidialtiere häufig noch dadurch, daß bei ihnen wahrscheinlich infolge der Chromidienbildung die Kernmembran undeutlicher (ev. verflüssigt) wird, so daß der Kern seine Kugelgestalt einbüßen und bei den Plasmaströmungen verzerrt werden kann. Daher kommt dann die Übereinstimmung des Kernes mit den von Schaudinn für die

Entamoeba histolytica beschriebenen Charakteren. Die oben angeführten Beobachtungen sowie der weitere Verlauf dieser Formen beweist aber mit Sicherheit, daß es sich hier um Stadien von *Entamoeba tetragena* handelt.



Fig. 10.

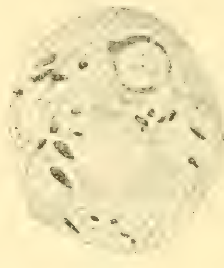


Fig. 11.

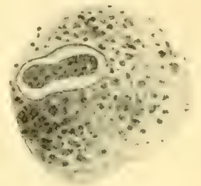


Fig. 12.

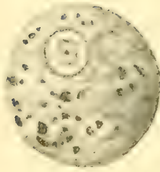


Fig. 13.



Fig. 14.

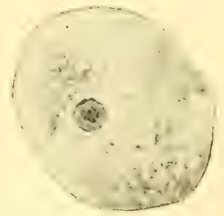


Fig. 15.

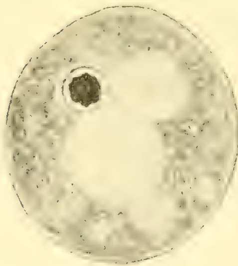


Fig. 16.

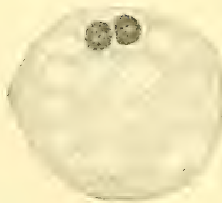


Fig. 17.

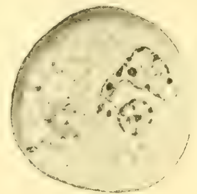


Fig. 18.

Fig. 10—18. *Entamoeba tetragena.* Chromidien- und Degenerationsformen.
Fig. 10 u. 11 Austritt von Chromatin aus dem Kern, bei Fig. 11 zwei Centriole im Caryosom, Fig. 12 Kernteilung bei einem Chromidialtier, Fig. 13 sehr kleine Chromidialform, Fig. 14 Degenerationsform mit aufgeblähtem Kern und fädigen Chromidien, Fig. 15 u. 16 Degenerationsformen mit großem Caryosom und aufgelöstem Außenkern, Fig. 17 Degenerationsform mit 2 Kernen, deren einer eine Partie abschnürt (scheinbare Reduktionsteilung), Fig. 18 desgl. mit zwei solchen Kernen (Copulation vortäuschend).
Vergr. ca. 2000 : 1. Original.

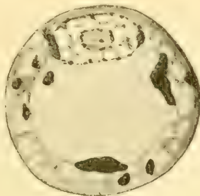
Neben diesen normalen Umwandlungen, die die Amöben erfahren, kommen bei diesen Stadien außerordentlich viele Degenerationsformen vor. Dabei kann man zwei Haupttypen unterscheiden. Bei dem einen bläht sich der Kern enorm auf und das

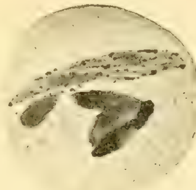
Chromatin sammelt sich in Form von einzelnen größeren Brocken an der Kernmembran (Fig. 14). Derartige Kernbilder entsprechen dann dem, was KOIDZUMI für seine sog. *Entamoeba nipponica* angegeben hat. Bei dem zweiten Typus von Degenerationsformen ist umgekehrt der Außenkern sowie die Kernmembran fast völlig verschwunden und nur noch ein beträchtlich großes Caryosom vorhanden (Fig. 15 u. 16). Auch hier findet man alle Übergangsformen von normalen Individuen. Solche Formen hat KOIDZUMI bei seiner sog. *E. nipponica* als aus einer Schizogonie hervorgegangen beschrieben. Manchmal sieht man auch zwei derartige kompakte Kerne dicht beieinander liegen (Fig. 18), und ich habe früher auf Grund solcher Bilder geglaubt, daß es sich hier um eine autogame Kernkopulation handelt. Der Mangel von Reduktionsteilungen[1]), sowie die Ähnlichkeit derartiger Kerne mit denen degenerierender Individuen haben mich jedoch von dieser Auffassung abkommen lassen.

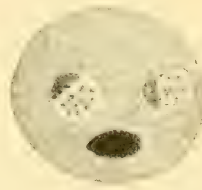
c) Cystenbildung.

Die vorher beschriebenen normalen Chromidialtiere mit ihrem typischen *Tetragena*-Kern sind es, die allein zur Encystierung schreiten. Vorher entledigt sich das Protoplasma aller Inhaltsbetandsteile, wie Nahrungsreste usw., so daß außer dem einen Kern nur noch die Chromidialkörper vorhanden sind. Dann kugelt sich die Amöbe ab und scheidet eine dünne, erst einfache, später doppelte Membran ab. Der Kern zeigt nun wieder deutlicher seine Membran (Fig. 19). Äusserst selten trifft man eine einkernige Cyste mit einer großen Vakuole (Fig. 20). Der Kern teilt sich hierauf durch eine etwas andere Mitose wie bei der vegetativen Form in zwei und dann


Fig. 19.


Fig. 20.


Fig. 21.


Fig. 22.

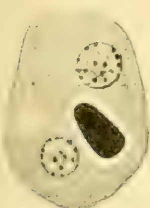

Fig. 23.


Fig. 24.


Fig. 25.

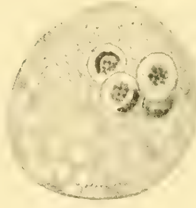

Fig. 26.

Fig. 19—26. Cysten von *Entamoeba tetragena*.

Fig. 19 Einkernige Cyste mit 3 Chromidialkörpern, Fig. 20 Einkernige Cyste mit großer Flüssigkeitsvakuole und vielen Chromidialbrocken, Fig. 21 Mitose, Fig. 22 Zweikernige Cyste direkt nach der Kernteilung mit je 2 gesonderten Partien in jedem Kern, Fig. 23 Zweikernige Cyste mit ruhenden Kernen, Fig. 24 Dreikernige Cyste, ein Kern in Teilung, Fig. 25 Vierkernige Cyste, Fig. 26 Vierkernige Cyste ohne Chromidialkörper. Vergr. ca. 2000 : 1.

[1]) Neuerdings habe ich zwar einige zweikernige Amöben kurz vor und nach der Encystierung gefunden, deren einer Kern eine Portion abzuschnüren schien (Fig. 17), was man event. als Reduktionsteilung deuten könnte. Doch erwecken die Bilder auch mehr den Eindruck von Degeneration.

durch eine nochmalige Teilung in vier Kerne (Fig. 21—26). Der Hauptcharakter dieser Mitosen besteht in ihrer äußerst lang ausgezogenen Spindel (Fig. 21). Kurz nach der Teilung sind die Kernsubstanzen in auffallender Weise in jedem neuen Kern in zwei nebeneinanderliegende Partien scharf gesondert, eine kompakte, die dem Caryosom entspricht, und eine lockere, die dann später zum Außenkern wird (Fig. 22). Die großen Chromidialkörper werden allmählich kleiner und können schließlich ganz resorbiert werden (Fig. 26). Mit den vierkernigen Cysten ist der Abschluß der Entwicklung erreicht und durch sie vollzieht sich offenbar die Neuinfektion, wie die Versuche von Huber und Viereck zeigen. Mehr als vier Kerne werden niemals gebildet. Durch die Vierzahl der Kerne, den beträchtlich großen Chromidialkörper, sowie ihre meist bedeutend geringere Größe unterscheiden sich die Cysten sehr leicht von denen der *Entamoeba coli.* Die Differentialdiagnose ist in dem Falle, daß Cysten vorhanden sind, um so leichter, als sie sich dann in außerordentlich großer Zahl finden, da schließlich nur noch Chromidialtiere und Cysten vorhanden sind.

Daß man mit diesen Cysten per os Katzen positiv infizieren kann, haben Viereck und Huber nachgewiesen. Wo die Cysten jedoch platzen, ist noch nicht festgestellt. Nach Analogie mit den Resultaten von Mercier bei *Entamoeba blattarum* ist zu vermuten, daß aus der Cyste vier kleine Amöben auskriechen, die paarweise miteinander copulieren. Auch neuere Beobachtungen an *Entamoeba coli* deuten darauf hin, daß bei den menschlichen Darmamöben ein derartiger Befruchtungsvorgang und nicht eine Autogamie vorliegt.

II. *Entamoeba histolytica* Schaudinn em. Hartmann.

a) Vegetative Formen.

Größe, Plasma und Bewegung. Über Größe, Plasmabeschaffenheit und Bewegung ist der bei *Entamoeba tetragena* gegebenen Beschreibung nichts hinzuzufügen, da die *E. histolytica* in all diesen Punkten mit jener vollkommen übereinstimmt.

Kern. Nach Schaudinn's Angaben, die ich bestätigen konnte, besitzt der Kern der vegetativen *Entamoeba histolytica* im Gegensatz zu dem von *Entamoeba coli* und *tetragena* keine doppelt konturierte achromatische Membran. Er verändert daher, wie man gelegentlich im Leben beobachten kann, oft seine Gestalt und wird von Fremdkörpern, die sich im Plasma befinden, während der Bewegung leicht ganz verzerrt. Seine Lage ist stets excentrisch, oft ganz an der Grenze des Ectoplasmas, gegen das er in vielen Stadien als platte Scheibe angepreßt erscheint.

Im gefärbten Präparat tritt diese Formveränderlichkeit gleichfalls deutlich hervor (Fig. 27). Auffallend und charakteristisch ist ferner seine große Chromatinarmut; meist ist, wie es Schaudinn beschrieben hat, nur ein kleines Caryosom vorhanden, sowie an der Kerngrenze eine verdichtete feine Lage von chromatischer Substanz (Fig. 27). Da, wie wir oben gesehen haben, vor der Cystenbildung die Individuen von *Entamoeba tetragena* durchgängig sich weitgehend verändern, und dabei auch die hier für *Entamoeba histolytica* beschriebenen Kernverhältnisse aufweisen können, so wird der zu Beginn der neueren Amöbenforschung so sicher erscheinende Charakter des Kernes für die Diagnose wiederum eingeschränkt, und es müßte in einem solchen Falle durch weitere Untersuchungen das Auftreten von *Tetragena*-Cysten ausgeschlossen werden, um daraufhin eine derartig charakterisierte Amöbe als *Entamoeba histolytica* ansprechen zu können. Auf diese Weise konnten ein großer Teil der Schaudinn'schen *Histolytica*-Fälle, sowie auch von mir beobachtete, ferner

von WHITMORE aus Manila mitgebrachte Fälle, die anfangs für *E. histolytica* gehalten wurden, bei weiterer Untersuchung schließlich doch als *E. tetragena* festgestellt werden. Daher können auch die von WERNER beschriebenen und abgebildeten Amöben nicht für *E. histolytica* in Anspruch genommen werden.

Fortpflanzung. SCHAUDINN hatte nach Beobachtungen im Leben eine zweifache Art der Vermehrung für *Entamoeba histolytica* angegeben, eine Teilung und eine Knospung. „Die Teilung unterscheidet sich von der Knospung nur dadurch, daß die Tochtertiere annähernd gleich sind, während die in Ein- und Mehrzahl auftretenden Knospen kleiner sind als das zurückbleibende Muttertier. Die Kernvermehrung ist in beiden Fällen eine amitotische, aber ebenfalls entweder Teilung oder einfache

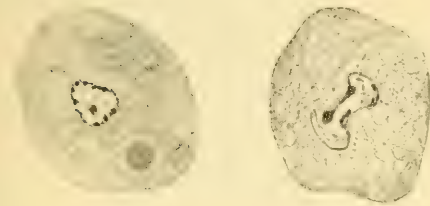


Fig. 27. Fig. 28.

Fig. 27 u. 28. *Entamoeba histolytica.* Fig. 27 Vegetative Form, Fig. 28 Kernteilung einer vegetativen Amöbe. Vergr. ca. 1300:1. Nach HARTMANN.

resp. multiple Knospung. Die multiple Knospung, d. h. die Abschnürung mehrerer kleinerer Tiere, hatte ich längere Zeit für die einzige Art der Vermehrung gehalten, solange ich nur die im Darmlumen vorkommenden Amöben beobachtete; als ich auch die lebensfrischen Darmschnitte untersuchte, fand ich die einfache Teilung und Knospung bei den zwischen den Zellen des Darmepithels eingezwängten Amöben. Diese Art der Vermehrung ist in diesem Medium ohne Zweifel die rationellere. In keinem Falle wurden aber Andeutungen von dem Vorhandensein einer Brutbildung von 8 Tieren, die für *Entamoeba coli* charakteristisch ist, gefunden.“ Ich selbst habe nie Gelegenheit gehabt, etwas davon zu sehen. Der Vorgang vollzieht sich offenbar sehr rasch. Auch keiner der anderen Untersucher nach SCHAUDINN hat etwas davon beobachtet. Ich habe nur einige promitotische Kernteilungen resp. Kernknospungen beobachtet an Amöben, deren Zugehörigkeit zur *E. histolytica* mir allerdings nachträglich fraglich erscheint (Fig. 28). Dasselbe gilt für die von WERNER beobachteten Stadien, die sich vermutlich auf degenerierende Formen von *Entamoeba tetragena* beziehen.

b) Chromidien- und Cystenbildung.

Der von SCHAUDINN entdeckte Vorgang der Chromidien- und Cystenbildung konnte nur bei einem einzigen Falle, auf den sich auch die SCHAUDINN'sche Beschreibung bezog, in gleichmäßiger, gesetzmäßig erscheinender Weise beobachtet werden. Bei den übrigen SCHAUDINN'schen Fällen handelte es sich um Chromidienbildungen von *E. tetragena,* wie aus dem gleichzeitigen Vorkommen von vegetativen Formen und Cysten von *E. tetragena* hervorgeht. In dem einen Falle jedoch handelte es sich um einen an allen Individuen in gleichmäßiger Weise sich vollziehenden Vorgang, der sich über einige Tage erstreckte, genau wie bei der oben beschriebenen Chromidien- und Cystenbildung bei *Entamoeba tetragena.* Der Vorgang beginnt damit, daß das Caryosom an die Kernmembran rückt und ev. durch heteropole Teilung, chromatisches Material an das Plasma abgibt. Auf etwas späteren Stadien liegt das Caryosom wieder im Zentrum des Kernes und die Chromidialbrocken haben sich vermehrt (Fig. 29). Die Vermehrung geht nun sehr rapide weiter, so daß das Plasma bald ganz von Chromidialbrocken erfüllt ist. Meist fehlt dann jede Beziehung der Chromidien

zum Kern, was für eine selbständige Vermehrung derselben spricht. In einem Tiere sind die einzelnen Chromidialbrocken in Form und Größe meist ziemlich gleich. Es sind kleine, etwas längliche Körner, häufig auch etwas stäbchenförmig. In letzterem Falle handelt es sich vermutlich um Teilungsstadien. Bei verschiedenen Individuen können sie verschiedene Größe aufweisen. Im Plasma werden sie durch die meist lebhafte Strömung mitgeführt und bilden dann ganze Züge, was auch in fixierten Präparaten deutlich zutage tritt (Fig. 29—34).



Fig. 29.

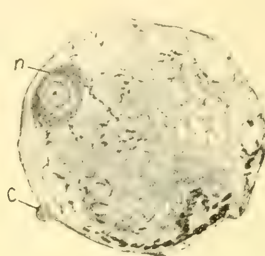


Fig. 30.

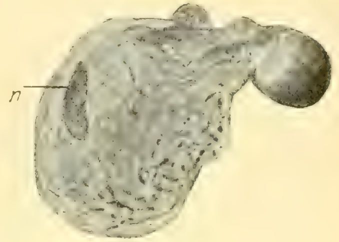


Fig. 31.

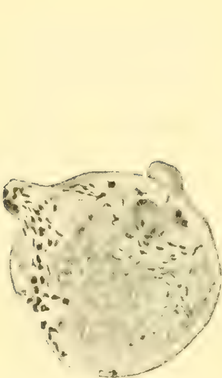


Fig. 32.

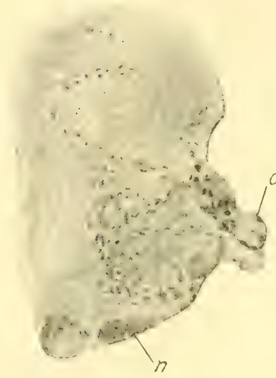


Fig. 33.

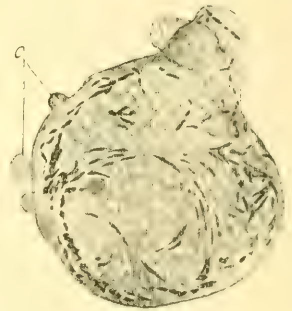


Fig. 34.

Fig. 29—34. Chromidien- und Cystenbildung von *Entamoeba histolytica*. (*n* Kern, *c* Cysten.)
Vergr. ca. 1300 : 1. Nach Hartmann.

Während dieser Chromidienbildung wird der Kern bald ganz diffus, schrumpft zusammen und färbt sich schlecht und mit einem schmutzigen Farbton (Fig. 31—33). Weiterhin wird er entweder ganz aufgelöst oder aus der Zelle eliminiert (Fig. 34). Der größte Teil der Amöben weist dann späterhin keine Spur mehr des ursprünglichen Kernes auf. Manchmal wird auch nur der Außenkern diffus und scheint sich aufzulösen, während das aufgeblähte Caryosom noch eine Zeitlang deutlich hervortritt (Fig. 30).

Wenn die Chromidienbildung weit genug vorgeschritten ist, bildet das in heftiger Strömung befindliche Plasma an einzelnen Stellen kleine Vorwölbungen, in die auch die Chromidien mit eintreten (Fig. 30—34). Derartige kleine Buckel werden dann abgeschnürt und umgeben sich sofort mit einer feinen undurchlässigen Membran, so daß weiter nichts mehr daran zu erkennen ist (Fig. 30, 33, 34 (c)). Es sind das die kleinen Schaudinn'schen Cysten von 2—7 μ Größe. Die Fig. 30—34 zeigen verschiedene Stadien dieser Cystenbildungen.

Einige Male habe ich auch eine Verschmelzung zweier derartiger Chromidialtiere beobachtet (Fig. 35). WERNER hat den Beginn einer derartigen Verschmelzung auch im Leben gesehen, sowie eine Abbildung nach fixiertem Präparat gegeben und dabei die Meinung ausgesprochen, daß es sich hierbei um eine ev. Copulation handelt. Seine Abbildung läßt aber erkennen, daß ihm degenerierende Amöben (wahrscheinlich *E. tetragena*) vorgelegen haben. Da ich gelegentlich auch eine Verschmelzung von 3 und 4 Individuen auffand (Fig. 36), kann es sich jedoch um nichts anderes handeln als eine bei Rhizopoden ja so weit verbreitete Plasmogamie.

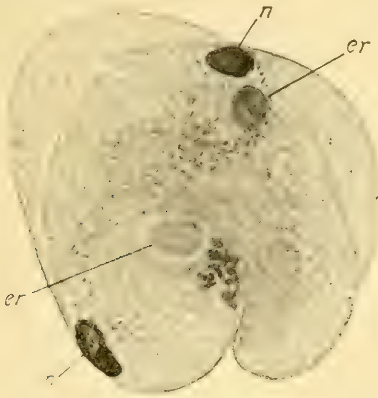


Fig. 35.



Fig. 36.

Fig. 35 u. 36. *Entamoeba histolytica.*

Fig. 35 Plasmogamie zweier Chromidialtiere. Fig. 36 plasmogamierte Individuen. Vergr. Fig. 34 ca 1300:1, Fig. 35 ca. 650:1. Nach HARTMANN.

Die weitere Entwicklung der Cysten konnte nicht verfolgt werden, dagegen hat SCHAUDINN mit getrocknetem Material, das keine lebenden vegetativen Amöben und auch bei gründlicher Untersuchung keine *Coli*-artigen Cysten (also auch keine *Tetragena*-Cysten) enthielt, durch Verfütterung per os bei Katzen Amöbendysenterie erzeugen können. Dieser Versuch, sowie die Gleichartigkeit der Chromidialformen in dem von SCHAUDINN und mir untersuchten Falle, sind die beiden einzigen Momente, die mich noch an der Spezifität der *E. histolytica* festhalten lassen. Immerhin wäre es möglich, daß bei dem Infektionsversuch doch noch einige übersehene *Tetragena*-Cysten dabei gewesen sein könnten und daß andererseits die Chromidien- und die Cystenbildung durch Knospung ein degenerativer Vorgang war, der einmal gleichmäßig bei allen Individuen verlaufen sei.

Unsere Kenntnisse vom Bau und der Entwicklung von *Entamoeba histolytica* sind somit jetzt noch lückenhafter als sie nach der SCHAUDINN'schen und meiner früheren Arbeit erschienen sind.

Biologie.

Vorkommen. Die beiden Dysenterie-Amöben, die *Entamoeba tetragena* und die *Entamoeba histolytica*, werden nur in Fällen von Ruhr, und zwar der sog. Tropenruhr, einer ulcerösen Enteritis, angetroffen. Wie schon eingangs erwähnt, wird in diesen Fällen fast immer die *Entamoeba tetragena* gefunden und nur ein einziger Fall kann noch für die *Entamoeba histolytica* in Anspruch genommen werden. Es ist dies einer der SCHAUDINN'schen Fälle, der aus China stammte. Die *Tetragena*-Fälle

verteilen sich über die ganzen tropischen und subtropischen Gebiete; so sind sie bekannt aus Südamerika (Brasilien), Centralamerika, Afrika (Südwest-Afrika, Kongo, Kamerun, Togo, Ostafrika und Ägypten), Vorder- und Hinter-Indien, Sumatra, Java, Philippinen, Formosa, China. Auch in Ländern von gemäßigtem Klima, wie Deutschland, England, Frankreich, sind einige Fälle von Amöben-Dysenterie beschrieben worden. Hier handelt es sich stets um sporadisches Auftreten, niemals um ein epidemisches, wie in den Tropen und Subtropen. Bei der Dysenterie-Epidemie, die in Ostpreußen von Jäger beschrieben und auf Amöben zurückgeführt worden ist, ist der Nachweis der Amöben sehr fragwürdig. Bei den sporadischen Fällen ließ sich mehrfach eine Kontaktinfektion durch aus den Tropen eingeschleppte Fälle zurückführen. So beschrieb Dopter in Toulouse einige Erkrankungen an Amöben-Dysenterie im Hospital, in dem gleichzeitig Soldaten mit tropischer Amöben-Dysenterie lagen. Ein außerordentlich instruktives Beispiel kann ich hier noch berichten. Im Moabiter Krankenhaus in Berlin wurde ein Dysenteriefall eingeliefert, bei dem von uns *Entamoeba tetragena* konstatiert werden konnte. Der betreffende Patient, ein Schneider von Beruf, war nie aus Deutschland herausgekommen. Durch Nachfragen konnte jedoch festgestellt werden, daß derselbe die Hosen der aus Südwest-Afrika zurückgekehrten Soldaten ausgebessert hatte, bei denen bereits *Entamoeba tetragena* aufgefunden worden war. Der Infektionsweg ist hiermit klargestellt. Vermutlich dürfte auch in den anderen berichteten Fällen ein ähnliches Zustandekommen vorliegen.

Züchtung. In der Literatur wird verschiedentlich angegeben, daß eine Züchtung der *Entameoba histolytica* resp. anderer parasitärer Amöben gelungen sei, so von Lésage, Noc, Walker, Musgrave und Clegg. Bei allen diesen Kulturen handelt es sich nicht um Reinkulturen, sondern um sog. Mischkulturen, wenn auch mit einem einzigen Bakterium, das den Amöben als Nahrung dient. Wie der Verfasser und seine Mitarbeiter Nägler und Whitmore, ferner Viereck und Werner schon hervorgehoben haben, sind diese kultivierten Amöben überhaupt keine parasitäre Formen, sondern Süßwasserformen, deren Cysten zufällig in den Fäces resp. im Absceßeiter vorhanden waren. Besonders die genaue Nachuntersuchung und Vergleichung dieser Formen, die Whitmore durchgeführt hat, stellt dies außer allen Zweifel. Damit sind die weitgehenden Schlüsse, die vor allen Dingen Musgrave und Clegg auf Grund von Infektionsversuchen mit derartigen Kulturamöben gezogen haben, hinfällig, Wenn ihnen auch wirklich die Erzeugung einer Dysenterie bei Affen mit derartigen Kulturamöben geglückt sein soll — ein Beweis, den sie nicht erbracht haben, da die von ihnen erzeugte Krankheit ein einfacher Darmkatarrh sein kann — so kann nach unserer Auffassung dies nur durch Übertragung von echten *Tetragena*- resp. *Histolytica*-Cysten zustande gekommen sein.

Übertragung auf Tiere. Wie zuerst Kartulis gezeigt hat, ist es möglich, die Dysenterie-Amöben im vegetativen Stadium durch Injektion in das Rectum auf Katzen zu übertragen. Diese Tierart eignet sich am besten zu derartigen Versuchen, doch gelangen Kartulis sowie Harris auch Übertragungen auf Hunde, Musgrave und Clegg auf Affen in der derselben Weise. Diese Versuche wurden später von einer ganzen Reihe von Forschern nachgemacht und bestätigt. Man geht dabei so vor, daß man womöglich jungen Katzen, bei denen man sich durch mehrmalige genaue mikroskopische Untersuchung von der Abwesenheit von Amöben im Stuhl überzeugt hat, $\frac{1}{2}$—1 cbm von amöbenhaltigen Schleimflocken eines frisch entleerten dysenterischen Stuhles in das Rectum einführt. Am besten narkotisiert man vorher die Tiere durch eine Morphiumeinspritzung (0,01 bis 0,03 g) und spritzt durch einen Katheder das amöbenhaltige Material ein. Doch gelingt auch die Infektion der Tiere, wenn man einen mit Schleim bestrichenen Glasstab tief in das Rectum einführt. Die Amöben erscheinen in der Regel nach 2—3 Tagen im Stuhl des infizierten Tieres. Eine In-

fektion mit vegetativen Formen per os gelingt nicht. Dagegen ist dies möglich mittels der Dauercysten, wie vor allen Dingen SCHAUDINN durch seine Versuche mit *Entamoeba histolytica*, VIERECK, HUBER durch solche mit Cysten von *Entamoeba tetragena* gezeigt haben. Bemerkenswert ist noch, daß HUBER auch Kaninchen auf diese Weise infizieren konnte, die jedoch keine typischen Krankheitserscheinungen zeigten, und bei denen die Infektion erst nach dem Tode an dem, allerdings stark abweichendem pathologisch-anatomischem Befund mit Amöben festgestellt werden konnte.

P a t h o g e n i t ä t. Die Auffassung, daß die Dysenterie-Amöben (also vor allem die *Entamoeba tetragena*) in der Tat der Erreger der Krankheit ist, bei der sie angetroffen werden, ist erst in neuerer Zeit zur herrschenden geworden. Wohl hatten schon KARTULIS, KRUSE und PASQUALE, COUNCELMANN und LAFLEUR, HARRIS u. a. durch Übertragung von amöbenhaltigem Dysenteriestuhl in das Rectum von Katzen bei diesen Tieren typische Dysenterie erzeugen können. Da jedoch auch mit nicht amöbenhaltigen Stühlen bei Katzen ähnliche Krankheitsbilder erzeugt werden können, wie CASAGRANDI und BARBAGALLO zuerst angegeben haben und was Verfasser bestätigen kann, so waren diese Versuche nicht entscheidend. Selbst die Angabe von KRUSE und PASQUALE, daß es ihnen mit amöbenhaltigem, bakterienfreiem Leberabszeßeiter gelungen sei, Katzen per rectum zu infizieren, ist nicht so beweiskräftig, wie sie von manchen Seiten betrachtet wurde. Denn wenn auch keine Bakterien aus diesem Eiter gezüchtet werden konnten, so wäre doch sehr wohl die Anwesenheit unzüchtbarer pathogener Mikroben neben den Amöben möglich. Mehr Gewicht bekommen diese Versuche einmal durch die pathologisch-anatomischen Befunde (R. KOCH, KRUSE und PASQUALE, KARTULIS usw.) und dann vor allem durch den zuerst von JÜRGENS geführten Nachweis (später von SCHAUDINN, RUGE, vom Verfasser u. a. bestätigt), daß die Amöben im Katzen- wie im Menschendarm durch die intakte Schleimhaut eindringen, in die sie sich vermöge ihres zähen Ectoplasmas einbohren. Diesem zähen Ectoplasma schreibt SCHAUDINN direkt ihre pathogene Wirkung zu. Noch sicherer wird ihre ätiologische Rolle durch den von SCHAUDINN, VIERECK, HARTMANN, WERNER geführten Nachweis, daß 2 (resp. 3) scharf unterschiedene Amöbenarten vorkommen, von denen die eine harmlos ist und nur die beiden anderen eine pathogene Wirkung ergeben. Die ätiologische Rolle der Dysenterie-Amöben stützt sich somit auf folgende Punkte:

1. Die *Entamoeba tetragena* und *histolytica* finden sich nur bei Ruhrkranken.
2. Diejenigen Ruhrfälle, bei denen diese Amöben gefunden werden, sind klinisch, pathologisch-anatomisch und epidemiologisch scharf charakterisiert.
3. Die Amöben dringen aktiv in die unverletzte Schleimhaut ein.
4. Mit den vegetativen Amöben kann man durch Injektion per rectum, mit den Cysten per os das typische Bild einer ulcerösen Enteritis bei Versuchstieren hervorrufen.

P a t h o l o g i s c h e A n a t o m i e. Über die charakteristischen pathologisch-anatomischen Veränderungen, die die Dysenterieamöben hervorrufen, sei hier nur ganz kurz berichtet. Im Gegensatz zur bacillären Ruhr trifft man hierbei keine flächenartige Erkrankung der Darmschleimhaut, sondern nur vereinzelte scharf umschriebene Geschwüre. Dieselben schwanken zwischen Stecknadelkopf- und Talergröße und reichen in die Submucosa, meist bis zur Muscularis, seltener durch die Muscularis zur Serosa. Sehr häufig sind flaschenförmige Geschwüre mit enger Öffnung in der Mucosa, die oft ganz unterminiert ist (Taf. I Fig. 6). Dieses charakteristische anatomisch-pathologische Bild ist bedingt durch Art und Weise wie die Amöben in das Gewebe eindringen und sich dort ausbreiten. Sie durchbohren nämlich die zunächst noch intakte Schleimhaut und dringen straßen- oder keilförmig sowohl innerhalb der Drüsenlumina als auch zwischen denselben in

die Tiefe bis zur Submucosa, wo sie dann ganze Nester bilden. Die Submucosa ist der Hauptsitz der Amöben. Die von den Amöben ergriffenen Darmfollikel werden in kleine Abszesse verwandelt, die nachträglich durch die Mucosa in den Darm aufbrechen (siehe Tafel I Fig. 6).

Auch in den Wandungen von Leberabszessen, die häufig als Komplikationen bei Amöbenruhr auftreten, sowie in den selteneren Gehirnabszessen (Kartulis, Viereck) finden sich regelmäßig Amöben.

Nachweis der Amöben.

Viele Irrtümer in der Literatur sind auf die ungenügende Technik der Amöbenuntersuchung zurückzuführen. Will man die Amöben lebend untersuchen, so ist es notwendig, möglichst frisch entleerten Stuhl zur Verfügung zu haben, dasonst vielfach die Amöben sich nur träge oder nicht bewegen und so für den Ungeübten eine Erkennung unmöglich machen. Bei Amöben- wie bei Bazillenruhr finden sich neben den Amöben amöbenartige Zellen von ähnlicher Größe, die, wenn keine deutliche Bewegung an den Amöben zu erkennen ist, im lebenden Objekt schwer oder überhaupt nicht von den Amöben zu unterscheiden sind. Auf diese Körperzellen haben schon Jürgens und v. Drigalski aufmerksam gemacht. Im frischen Stuhl zeigen jedoch die Amöben derartig charakteristische Bewegungen (s. die obige Beschreibung), daß sie mit nichts anderem zu verwechseln sind. Zur Untersuchung entnehme man stets von den glasigen blutigen Schleimflocken, aus denen im akuten Krankheitsstadium der Stuhl ja fast ganz besteht und die in chronischen älteren Fällen wenigstens in einzelnen Flocken den festeren Fäces beigemengt sind. In diesen Schleimflocken erscheinen die Amöben schon bei schwächerer Vergrößerung als sehr stark lichtbrechende Klümpchen, die sich durch ihre Größe, ihre starke Lichtbrechung ihre Bewegungen von Leucocyten und anderen Körperzellen unterscheiden lassen.

In der medizinischen Literatur wird meist der Nachweis der Amöben im gefärbten Präparat als weniger sicher hingestellt. Doch ist dies nur bei mangelhafter Technik der Fall, während sonst diese Methode der Lebenduntersuchung noch überlegen ist. Dies ist besonders der Fall, wenn die Amöben keine Bewegung mehr aufweisen. Um gut gefärbte Präparate zu erhalten, genügt allerdings nicht die bakteriologische Methode der Trockenfixierung. Hierzu ist unbedingt eine feuchte Fixierung und dauernde feuchte Weiterbehandlung notwendig. Man fertigt dünne Deckglasausstriche von amöbenhaltigen Schleimflocken und läßt sie sofort, noch ehe sie trocknen, mit der bestrichenen Seite nach unten horizontal auf die etwa auf 50° erhitzte Fixierungsflüssigkeit fallen, nimmt sie dann gleich wieder heraus und bringt sie auf weitere 10 Minuten nun mit der Schichtseite nach oben in die gleiche, aber kalte Lösung. Als Fixierungsflüssigkeit benutzt man Sublimatalkohol nach Schaudinn (2 T. conc. Subl. + 1 T. abs. Alk.) und Hermann'sche oder Flemming'sche Flüssigkeit. Nach Sublimatalkohol wäscht man die Ausstriche in 60° Alkohol mit Jodzusatz etwa $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, nach Hermann'scher oder Flemming'scher Lösung in destilliertem Wasser etwa 10 Minuten. Nach dem Waschen führt man die Präparate in 60°, dann in 70° Alkohol, in welch letzterem sie längere Zeit aufbewahrt werden können.

Zur Färbung empfiehlt sich vor allem Delafield's und Heidenhain's Eisenhämatoxylin. Letzteres gibt weitaus die schärfsten Bilder. Eine Nachfärbung mit einer Plasmafarbe (Eosin oder Lichtgrün), wobei die Nahrungseinschlüsse z. B. rote Blutkörperchen oft schöne Kontrastfärbungen annehmen (Taf. I, Fig. 5), erleichtert das Erkennen der Amöben zwar für den Ungeübten, vermindert aber die Schärfe

der Kernbilder. Dasselbe gilt von der sonst sehr empfehlenswerten feuchten Giemsa-Methode.

Kleine Darmstücke von an Amöben-Dysenterie gestorbenen Menschen oder Katzen, sowie ganze Schleimflocken aus Dysenteriestühlen, fixiert man in toto in heißem Sublimatalkohol (½ Stunde) und fertigt danach Schnitte von 5—10 μ Dicke. Die Färbung der Schnitte geschieht wie die der Ausstriche.

Literaturverzeichnis.

Casagrandi, Q. e Barbagllo, P. (1897), *Entamoeba hominis* s. *Amoeba coli* (Loesch), in: Ann. Igiene speriment. Vol. 7. Fasc. 4.

Councilman u. Lafleur (1891), Amoebic Dysenterie, in: John Hopkins Hospital Reports. Vol. 2.

Craig, C. F. (1908), Studies upon the Amebae in the Intestine of Man. Journ. Inf. Diseases. Vol. 5.

Doflein, Fr. (1909), Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena.

Dopter (1904), in: La Presse med. p. 705.

Elmassian (1909), Sur une espèce amibienne chez l'homme, *Entamoeba minuta* n. sp. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. LII.

Hartmann (1907), Praktikum der Protozoologie. 1. Auflage. Jena.

Derselbe (1908), Eine neue Dysenterieamöbe, *Entamoeba tetragena*. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene. Beih. 5.

Derselbe (1909), Untersuchungen über parasitische Amöben. I. *Entamoeba histolytica*, in: Arch. f. Protistenkunde. Bd. XVIII.

Hartmann, M. u. v. Prowazek, S. (1907), Blepharoplast, Caryosom und Centrosom, in: Arch. f. Protistenkunde. Bd. X.

Harris (1895), Amoebic Dysenterie, in: Amer. Journ. med. sc. Vol. 115.

Huber (1906), Berl. klin. Wochenschr. Nr. 50. S. 1609.

Derselbe (1909), Untersuchungen über Amöbendysenterie. Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. LXVII.

Jürgens (1902), Zur Kenntnis der Darmamöben und der Amöben-Enteritis, in: Veröff. a. d. Gebiete d. Militär-Sanitätswesens.

Derselbe (1907), Die Amöben-Enteritis und ihre Beziehungen zur Dysenterie. Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther. Bd. IV.

Kartulis (1886), Zur Ätiologie der Dysenterie aus Ägypten. Virchow's Arch. f. path. Anat. Bd. CV.

Derselbe (1907), Die Amöben-Dysenterie, in: Kolle-Wassermann, Handb. f. path. Mikroorganismen. Ergänzungsbd. H. 1.

Koidzumi, M. (1909), On a new parasitic Amoeba, *Entamoeba nipponica*, found in the intestine of Japanese. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. LI.

Koch, R. (1883), Berichte über d. Tätigkeit d. Exp. z. Erforsch. d. Cholera in Ägypten und Indien, in: Deutscher Reichsanzeiger.

Kruse, W. u. Pasquale, A. (1894), Untersuchungen über Dysenterie und Leberabszesse. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI.

Kuenen (1909), in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Beiheft.

Lesage, A. (1905), Culture de l'amibe de la dysenterie des pays chauds. Ann. Inst. Pasteur. Tom. 18 u. 19.

Loesch (1875), Massenhafte Entwicklung von Amöben im Dickdarm. Virch. Arch. Bd. LXV.

Mercier, L. (1900), Contribution à l'étude de l'Amibe de la Blatte (*Entamoeba blattae* Bütschli). Arch. f. Protistenkunde. Bd. XX.

Musgrave u. Clegg (1904), Amebas, their cultivation and etiolog. etc. Manila Bur. gouv. labor. biol. lab. Nr. 18.

Nägler, K. (1909), Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenkunde. Bd. XV.

Noc, F. (1909), Sur la dysenterie amibienne en Cochinchine. Ann. Inst. Pasteur. T. 23.

Ruge, R. (1906), Amöbenruhr, in: Mense's Handbuch f. Tropenkrankheiten. Bd. III.

Schaudinn, F. (1903), Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. XIX.

Viereck, H. (1907), Studien über die in den Tropen erworbene Dysenterie. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. XI. Beih. 1.

Walker (1907), The parasitic Amebae of the intestinal tract of man and other animals. Journ. med. research. Vol. 17.

Wenyon, C. M. (1908), Third Report Wellcome Research Laboratories. Karthum. p. 128.

Werner, H. (1908), Studien über pathogene Amöben. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. XII. Beih. VI.

Whitmore, E. R. (1911), in: Arch. f. Protistenkunde. Bd. XXIII.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1—3. Drei aufeinanderfolgende Bewegungsstadien einer lebenden *Entamoeba tetragena.* Vergr. ca. 1300 : 1. (Obj. 2 mm, Comp. Oc. 8.)

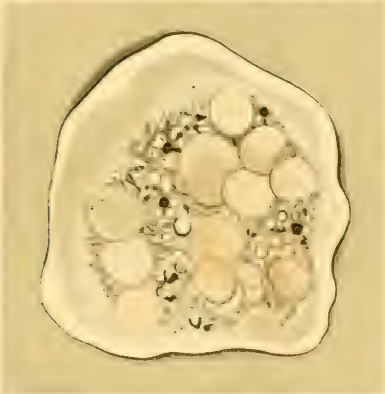
Fig. 4. Große vegetative Form von *Entamoeba tetragena* mit vielen gefressenen Blutkörperchen. Vergr. wie bei Fig. 1.

Fig. 5. Vegetative *Entamoeba tetragena* nach Fix. mit Subl.-Alk. und Färbung mit Lithiumkarmin-Lichtgrün, sehr schöne Kontrastfärbung zwischen Caryosom, Außenkern und gefressenem Erythrocyt zeigend. Vergr. wie in Fig. 1.

Fig. 6. Schnitt durch einen mit Dysenterieamöben infizierten Katzendarm. Rechts ein Follikulargeschwür, links ein Follikularabszeß. Nach Jürgens.

1. 2. 3.



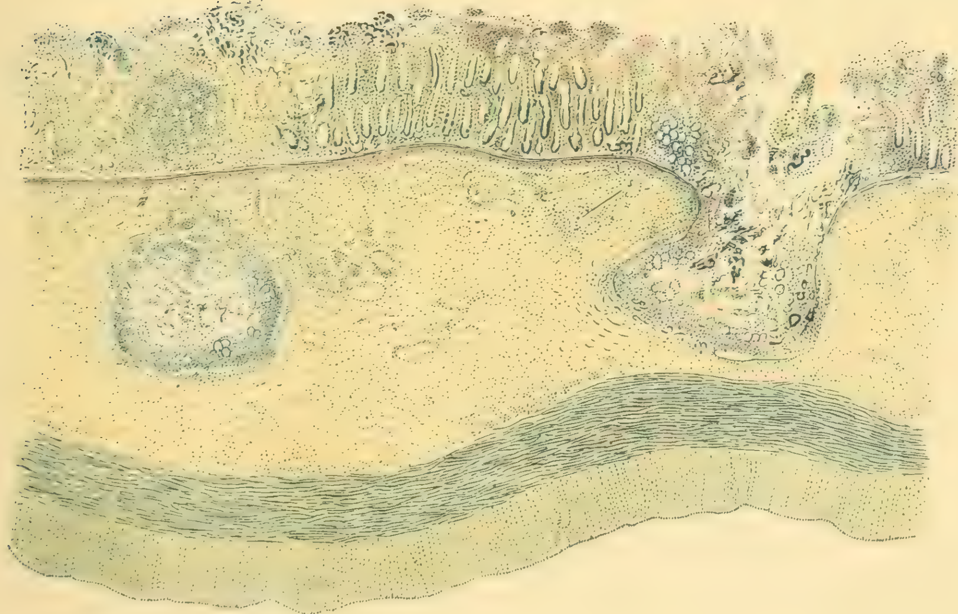


4.

5.



6.



Verlag von Johann Ambrosius Barth in Leipzig.
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Entamoeba coli.

Von

Dr. **Heinrich Werner**, Hamburg.

Mit Tafel II.

Der Name *Entamoeba coli* stammt von Schaudinn (25), der ihn in seiner für diese Amöbe grundlegenden Arbeit vorgeschlagen hat. Von Loesch (21) war einer Amöbe, deren Identität mit der von Schaudinn als *Entamoeba coli* beschriebenen fraglich ist, der Name *Amoeba coli* gegeben worden, eine Bezeichnung, die von Casagrandi und Barbagallo (4) unter Einführung eines neuen Gattungsnamens für die parasitären Darmamöben in *Entamoeba hominis* geändert wurde. Da aber Casagrandi und Barbagallo ihre Amöbe mit der von Loesch beschriebenen für identisch hielten, so mußte der von Loesch gegebene Artname *coli* beibehalten werden, so daß nunmehr nach Schaudinn's Vorschlag der Name *Entamoeba coli* (Loesch emendat. Schaudinn) zu Recht besteht.

Es ist als zweifellos anzusehen, daß ein großer Teil der Autoren, welche über Amöben gearbeitet haben, die *Entamoeba coli* vor sich gehabt und beschrieben hat, doch fehlt den Beschreibungen der großen Mehrzahl dieser Autoren die deutliche Charakterisierung als diejenige Form, die wir als *Entamoeba coli* kennen. Da die scharfe Charakterisierung nur möglich ist auf Grund der Klarlegung des ganzen Kreislaufes — die morphologischen Unterschiede der gewöhnlich beobachteten und beschriebenen vegetativen Formen geben wohl einen Anhalt für die Artbestimmung, genügen aber nicht zur endgültigen Feststellung der Amöbenart — so müssen bei der Darstellung der Fortschritte unserer Kenntnisse über die *Entamoeba coli* vor allem diejenigen Arbeiten Berücksichtigung finden, welche den Entwicklungsgang der Amöbe klargelegt haben. In erster Linie sind in diesem Zusammenhang zu nennen die Arbeiten von Grassi und Calandruccio, von Casagrandi und Barbagallo und besonders die klassische Studie von Schaudinn, in der die Sonderstellung der *Entamoeba coli* auf Grund ihres Entwicklungszyklus im Gegensatz zu anderen Darmamöben klargelegt und die Einzelheiten dieses Entwicklungsganges geschildert wurden.

Grassi hat sich in einer ganzen Reihe von Arbeiten mit der *Entamoeba coli* beschäftigt. Er beobachtete sie zuerst 1879 (12) in mehreren Fällen im Darm des Menschen und sprach bereits damals die Überzeugung aus, daß sie nicht pathogen sei. Er hat dann in den folgenden Jahren (13) die Amöbe in verschiedenen Gegenden Italiens wiedergefunden, sowohl bei diarrhoischen Personen wie bei Gesunden. Er war es auch, der teils allein (14), teils mit Calandruccio (15) arbeitend, die Cysten der *Entamoeba coli* auffand und den Encystierungsvorgang beschrieb. Sein Mitarbeiter Calandruccio (3) setzte dann Grassi's Arbeiten fort, und es gelang ihm zum ersten Male eine Selbstinfektion mit *Entamoeba coli* durch Einführung der Cysten in seinen Darmkanal per os.

Die nächsten Autoren, die, nach den Cystenabbildungen und den Ergebnissen der Tierexperimente zu schließen, wohl sicher neben anderen Amöben auch *Entamoeba coli* vor sich gehabt und beschrieben haben, sind QUINKE und ROOS (24), die auf Grund ihrer Studien zur Aufstellung dreier verschiedener Amöben des menschlichen Darmes kamen. Auch SCHUBERG (26), dem mehrfach der Nachweis von Amöben in den durch salinische Abführmittel diarrhoisch gemachten Fäces Gesunder gelang, hat augenscheinlich *Entamoeba coli* vor sich gehabt.

Scharf charakterisiert wurde die *Entamoeba coli* zum ersten Male durch eingehende Beschreibung der vegetativen Formen und durch allerdings noch sehr unvollkommene Darstellung der Entwicklung innerhalb der Cysten von GRASSI's Schülern CASAGRANDI und BARBAGALLO, die in den Jahren 1895 (4) und 1897 (5) eingehende morphologische und biologische Schilderungen der *Entamoeba coli* gaben. Die sichere Unterscheidung der *Entamoeba coli* von anderen Amöben des menschlichen Darmes gelang erst SCHAUDINN, der in der oben zitierten, von ihm selbst als vorläufige Mitteilung bezeichneten Arbeit den ganzen Entwicklungsgang der *Entamoeba coli*, insbesondere die so komplizierten Kernveränderungen innerhalb der Cyste darlegte und durch gleichzeitige Charakterisierung einer pathogenen Amöbenart des menschlichen Darmes die Differenzierung der *Entamoeba coli* von dieser letzteren ermöglichte.

In den folgenden Jahren wurden besonders von amerikanischer Seite (2, 8, 9, 17, 27) die Erfahrungen über das Vorkommen und die klinische Bedeutung der *Entamoeba coli* erweitert und durch Aufdeckung des Entwicklungsganges von Amöben, die der *Entamoeba coli* nahestehen (29, 28, 16, 11), wertvolle Parallelen zu letzteren aufgefunden.

Die *Entamoeba coli* ist, soweit die nur spärlichen bisher veröffentlichten Untersuchungen, die ausdrücklich die Feststellung von *Entamoeba coli* im Gegensatz zu anderen Amöben bezwecken, erkennen lassen, weit verbreitet. GRASSI und CALANDRUCCIO haben ebenso wie CASAGRANDI und BARBAGALLO ihr häufiges Vorkommen in Italien nachgewiesen. SCHAUDINN fand die *Entamoeba coli* bei der Landbevölkerung in Ostpreußen bei der Hälfte von 68 untersuchten gesunden Personen. In Berlin betrug nach SCHAUDINN's Untersuchungen der Prozentsatz der positiven Fälle 20, während die ebenfalls von SCHAUDINN im österreichischen Küstenlande ermittelte Zahl der Amöbenträger beträchtlich größer war, nämlich 256 von 385 untersuchten Fällen (64 %). In den Vereinigten Staaten von Nordamerika scheint die *Entamoeba coli* weit verbreitet zu sein. Nach den von CRAIG in Gemeinschaft mit ASHBURN (8, 9, 2) angestellten Ermittlungen in San Francisko, welche ein aus allen Teilen der Vereinigten Staaten zusammengewürfeltes Menschenmaterial betrafen, ergab sich, daß 65 % der untersuchten Personen und zwar darmgesunden Personen, die *Entamoeba coli* in ihrem Darm beherbergten. Die Untersuchungen wurden stets nach Darreichung von Karlsbader Salz angestellt, und es verdient hervorgehoben zu werden, daß häufig mehrfache Untersuchung nötig war, bevor die Amöben gefunden wurden. Auch von den Philippinen liegen eingehende statistische Untersuchungen über das Vorkommen von *Entamoeba coli* von amerikanischer Seite vor. VEDDER (27) fand daselbst 50 % der Weißen und 75 % der Philippinos mit *Entamoeba coli* infiziert.

Von mir selbst in Hamburg im Seemannskrankenhause durchgeführte Untersuchungen haben Befunde von *Entamoeba coli* ergeben aus China, Argentinien, Deutsch-Ostafrika und Deutsch-Südwestafrika.

Die Größe der vegetativen Formen der *Entamoeba coli* variiert in weiten Grenzen. CASAGRANDI und BARBAGALLO geben 10 μ als Durchmesser der kleinsten und 50 μ als Durchmesser der größten Formen an. Nach meinen Messungen geht

die untere Grenze der amöboiden Formen sogar noch beträchtlich weiter herab und man kann junge Amöben von nicht mehr als 5 μ Durchmesser beobachten (Fig. 4, 6, 7). Mit Recht machten CASAGRANDI und BARBAGALLO darauf aufmerksam, daß es verfehlt ist, auf Größendifferenzen Artunterschiede zu basieren. Sicher ist wohl ein Einfluß der Darmtätigkeit auf die Größe der vegetativen Formen der *Entamoeba coli* anzunehmen, wenigstens sprechen in diesem Sinne die Beobachtungen von CASAGRANDI und BARBAGALLO und von QUINKE und ROOS, die eine Größenabnahme der Amöben bei akuten Diarrhöen feststellten.

Bei der lebenden, in Bewegung begriffenen *Entamoeba coli* kann man Ento- und Ektoplasma unschwer unterscheiden. Das hyaline Entoplasma tritt erst bei der Bewegung hervor, während im Ruhestadium der vegetativen Form Ento- und Ektoplasma keine Sonderung erkennen lassen. Das Lichtbrechungsvermögen des Ektoplasmas ist etwas geringer als das des Entoplasmas, welch letzteres auch eine stärkere Färbbarkeit aufweist. Die Gestalt der Pseudopodien ist starkem Wechsel unterworfen; man kann alle Übergänge beobachten von schmalen fingerförmigen Fortsätzen zu halbkugeligen Verwölbungen, die die ganze Amöbenbreite als Basis haben. Die Basis der Fortsätze läßt häufig eine feine Demarkierungslinie erkennen, welche die Grenze gegen die übrige Amöbenmasse darstellt, eine Grenzlinie, die den Eindruck einer Bruchpforte macht, die überwunden werden muß von dem in Form des Pseudopodiums nach außen strömenden Ektoplasma. Die Eigenart der Pseudopodienbildung ermöglicht der Amöbe auch in gewissem Sinne eine Ortsveränderung, wenn nämlich die Pseudopodienvorstülpung immer nach einer Richtung erfolgt und das Nachfließen des Entoplasmas in der gleichen Richtung sich vollzieht; die Amöbe erscheint dabei langgestreckt.

Das Entoplasma ist gegenüber dem Ektoplasma durch seine granuläre Beschaffenheit gekennzeichnet. Diese Granula lassen im Leben eine Strömung erkennen, die dem Fließen des Entoplasmas entspricht. Man kann bisweilen diese Granulaströmung noch erkennen, wenn die Konturveränderung der Amöbe bereits nicht mehr zu sehen ist, als Zeichen noch vorhandenen Lebens in der Amöbe. CASAGRANDI und BARBAGALLO unterscheiden Elementargranula von Exkretionsgranulis. Die ersteren, die Elementargranula, sind sehr klein, von annähernd gleicher Größe, während die Exkretionsgranula größer sind, dabei vielgestaltig und von dunklerem Lichtton als die Elementargranula. Die mehr oder weniger homogene Masse des Entoplasmas der vegetativen Form der *Entamoeba coli* ist sowohl bei Betrachtung der lebenden Amöbe wie bei der des fixierten und gefärbten Tieres häufig unterbrochen von helleren, kreisrund oder oval begrenzten Stellen, von Vakuolen. Pulsierende Vakuolen kommen, wie nirgends bei den parasitären Amöben, so auch bei der *Entamoeba coli* nicht vor. Die Größe der Vakuolen ist sehr großen Schwankungen unterworfen; neben Vakuolen von kaum 1 μ Durchmesser werden andere, die den Kern an Größe bedeutend übertreffen, beobachtet. Häufig findet man in den Vakuolen Fremdkörper (Nahrungsvakuolen). Die leeren bzw. gasgefüllten Vakuolen, die die Mehrzahl bilden, vergehen in dem in starker Bewegung befindlichen Amöbenkörper so schnell wie sie entstanden sind, während die Nahrungsvakuolen durch eine gewisse Konstanz der Form und des zeitlichen Bestehens ausgezeichnet sind. Vielfach vereinigen sich Vakuolen, um sich bald wieder zu trennen oder ganz zu verschwinden. Das fesselnde Bild einer lebenden vegetativen Form der *Entamoeba coli* zeigt eine von Sekunde zu Sekunde wechselnde Vakuolenanordnung. Auch die Anzahl der Vakuolen ist großen Schwankungen, sogar bei derselben Amöbe unterworfen. Die Fremdkörper der Nahrungsvakuolen dienen entweder der Nahrung der Amöbe oder sie werden ungenutzt aufgenommen und wieder ausgeschieden. Als solche Fremdkörper kommen die meisten der in der

natürlichen Umgebung der Amöben vorkommenden Organismen, aber auch tote Stuhlbestandteile in Betracht. Von Organismen wurden in Amöben gefunden Bakterien, Kokken, Hefezellen, Leukocyten oder nur Kerne solcher, Trichomonaden, Darmepithelzellenreste und Detritus von nicht näher bestimmbarer Provenienz. Da die *Entamoeba coli* im gesunden Darm lebt, so ist man nicht in der Lage, Erythrocyten in ihrem Inneren zu beobachten. Es liegt aber deshalb noch kein Grund vor zu der verbreiteten Meinung, sie nähme im Gegensatz zu den pathogenen Amöben überhaupt keine Erythrocyten auf. Als ein sicheres Beweismittel für die Pathogenität einer Darmamöbe möchte ich jedenfalls den Befund von roten Blutkörperchen im Innern der Amöbe nicht ansprechen.

Der Kern der vegetativen Amöbenform ist bei Beobachtung des lebenden Tieres gewöhnlich sichtbar. Bei günstigen Verhältnissen kann man alle morphologischen Einzelheiten des Kernes lebend beobachten. Jedoch ist die Sichtbarkeit des Kernes der lebenden Amöbe nicht als ständiges und für die Artbestimmung der *Entamoeba coli* verwendbares Kriterium zu betrachten. Es kommen gar nicht so selten auch vegetative Formen vor, die im lebenden Zustande einen Kern vermissen lassen. Stets sichtbar dagegen ist der Kern im gehärteten und gefärbten Präparat. Die Größe des Kernes variiert innerhalb weiter Grenzen; eine besondere Größe zeigt der zur Teilung sich anschickende Kern.

Die Form des Kernes ist die einer ziemlich starren Kugel. Dafür spricht die gewöhnlich anzutreffende Kreisgestalt des Kernbildes, das höchstens zu einem Oval verzogen ist, aber nicht, wie bei pathogenen Amöben so häufig, Einbuchtungen erkennen läßt. Diese verhältnismäßig große Starre des Kernes ist zurückzuführen auf die Stärke und Resistenz der Kernmembran, welche eine beträchtlichere Gestaltveränderung des Kernes während der Bewegungen der Amöbe nicht zuläßt. Die Lage des Kernes innerhalb des Amöbenprotoplasmas ist bei den lebhaften Strömungen während der Bewegungen des Tieres starkem Wechsel unterworfen; bisweilen wird der Kern durch die Protoplasmastörungen ganz an die Grenze von Ento- und Ektoplasma gedrängt, doch bleibt er stets mit dem Entoplasma im Zusammenhang, so daß er nie ganz von Ektoplasma umgeben ist. Das Chromatin des Amöbenkernes findet sich teils wandständig in der Kernmembran bzw. dieser angelagert, teils zentra in dem stets gut sichtbaren und verhältnismäßig großen Karyosom, teils unregelmäßig in dem Kernnetzwerk, das sich zwischen Karyosom und Membran ausbreitet, verteilt. Am Karyosom kann man häufig noch eine dichtere, zentral gelegene Chromatinmasse erkennen, das Centriol. Am Karyosom spielen sich, ähnlich wie dies von Hartmann für die *Entamoeba tetragena* beschrieben worden ist, zyklische Vorgänge ab, die morphologisch in Ringbildungen ihren Ausdruck finden. Man kann diese Vorgänge, die an den gefärbten Objekten häufig in die Erscheinung treten, gelegentlich auch am frischen ungefärbten Präparat deutlich verfolgen. Das Karyosom nimmt an Größe zu, sein pheripherer Teil trennt sich durch einen helleren Ring vom Centriol ab; im weiteren Verlaufe wandert der periphere Karyosomring weiter nach außen unter fortgesetzter Umfangzunahme, bis er die Kernmembran erreicht, mit deren Chromatin er dann verschmilzt. Diese zyklischen Vorgänge am Karyosom bei den *Entamoeba coli* sind vollkommen analog denen bei der *Entamoeba tetragena*, können also als Unterscheidungsmerkmal dieser beiden Arten voneinander nicht benutzt werden.

Endlich möchte ich noch eines feines Saumes von gleichgroßen, stark lichtbrechenden Körnchen Erwähnung tun, der die Kernmembran der *Entamoeba coli* bisweilen umgibt; dieser Saum ist häufig lebend zu beobachten und tritt besonders deutlich bei Vitalfärbung mit Neutralrot oder Azur in die Erscheinung, ist aber bei gehärteten und gefärbten Präparaten nicht sichtbar (Fig. 12).

Die Vermehrung der vegetativen Formen der *Entamoeba coli* geschieht vorwiegend durch Zweiteilung, wie sie bereits von GRASSI und CALANDRUCCIO beschrieben worden ist. Auch CASAGRANDI und BARBAGALLO geben mehrere Abbildungen von Zweiteilung vegetativer Formen. Es handelt sich nach SCHAUDINN um eine amitotische Teilung des Kernes, der die Durchschnürung der ganzen Zelle folgt. Daneben kommt es unter noch unbekannten Umständen zu einer multiplen Teilung, die bereits von CASAGRANDI und BARBAGALLO vermutet und von SCHAUDINN beschrieben worden ist. Es handelt sich dabei nach SCHAUDINN um folgenden Vorgang: Das Kernchromatin sammelt sich an der Innenseite der Kernmembran in 8 getrennten Anhäufungen, die bei dem Auseinanderfallen des alten Kernes unter gleichzeitiger Aufteilung der übrigen Kernmasse zu Tochterkernen werden. Ich habe 2 achtkernige vegetative Formen beobachtet, die ich als Endstadien dieses Teilungsprozesses ansprechen möchte (Figg. 13 u. 14).

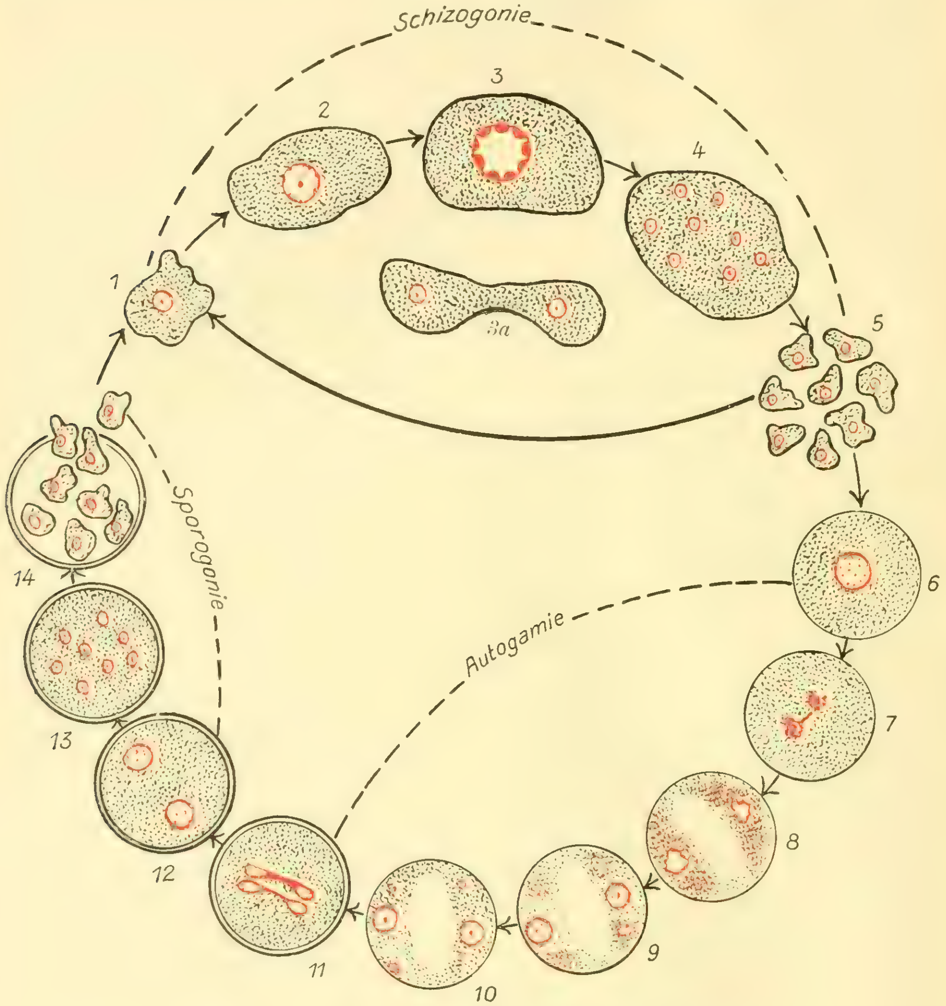
Für die Arterhaltung der *Entamoeba coli* sind die von GRASSI entdeckten Cysten von entscheidender Bedeutung. Die Größe der Cysten schwankt ebenso wie die der vegetativen Formen innerhalb weiter Grenzen. CASAGRANDI und BARBAGALLO beobachteten Durchmessergrößen, die zwischen 8 und 30 μ lagen, im Mittel aber 15 μ nach unten und 20 μ nach oben nicht überschritten. Nach meinen Messungen lebender Cysten schwankt die Durchmessergröße in den Grenzen von 6 und 22 μ. Die Form der Cysten ist entweder kreisrund oder oval mit nur geringer Längendifferenz des größten und kleinsten Durchmessers.

Die Cysten sind umgeben von einer aus dem Ektoplasma sich differenzierenden Hülle. In den jüngeren Stadien der Cystenentwicklung (ein- und zweikernige Formen) ist diese Hülle gallertig, schwach lichtbrechend, im vorgerückteren Zustande wird diese gallertige Hülle zu einer festen Schale, die sowohl im lebenden, wie im Bilde der fixierten und gefärbten Amöbe deutlich doppelt konturiert ist. Die schärfer sich abhebende Kontur ist die innere, die von der äußeren, zarteren durch einen Zwischenraum von kaum ½ μ Breite getrennt ist. Vor der Encystierung nimmt die vegetative Form durch Flüssigkeitsaustritt an Größe ab, entledigt sich aller Fremdkörper und nimmt unter Einstellung der Bewegungen und Protoplasmaströmungen kreisrunde oder rundovale Gestalt an. Durch die Ausstoßung aller Fremdkörper aus dem Protoplasma wird dieses hell und gut durchsichtig, so daß die Kernkonturen scharf hervortreten.

Während des ersten Teiles des Encystierungsprozesses ist nach SCHAUDINN ein heller Raum bzw. eine helle Zone im Innern der Cyste vorhanden, welche die beiden für die geschlechtliche Vereinigung bestimmten Kerne und das sie unmittelbar umgebende Protoplasma trennt und so den Cysteninhalt in 2 Teile teilt. Nach meinen Beobachtungen ist bei jüngeren Cysten häufig ein vakuolenähnliches Gebilde, das der von SCHAUDINN beschriebenen hellen Zone zu entsprechen scheint, vorhanden (Figg. 16, 17, 17a, 22, 24), doch ist es durchaus nicht bei allen jüngeren Cystenstadien zu sehen. Dieser hellere, vakuolenähnliche Raum bleibt bei Färbung mit Kernfarbstoffen ungefärbt. Bei Betrachtung des frischen Präparates kann man, soweit meine Erfahrung reicht, leicht vor die Frage gestellt werden, ob ein glänzender, scharf begrenzter Körper im Innern der Cyste einer solchen hellen Zone bzw. Vakuole entspricht oder ob es sich um eine größere, scharf konturierte Chromidialmasse handelt, wie sie in der ersten Hälfte der Cystenentwicklung häufig ist (Figg. 31, 36, 40). Eine bindende Antwort auf diese Frage gibt die Färbung, die die Chromidialmassen färbt, die Vakuole aber ungefärbt läßt. Auch die Unterscheidung der Vakuolenform der *Entamoeba coli* von Trichomonascysten, die im ungefärbten Bilde Schwierigkeiten machen kann, wird ermöglicht durch die Färbung, welche den zentralen Reservestoffkörper der Trichomonascyste dunkel erscheinen läßt.

Der Kern der Colicysten hat bei der einkernigen Form eine verhältnismäßig beträchtliche Größe. Kerne, die einen Durchmesser von ¼—⅓ des Cystendurchmessers aufweisen, sind keine Seltenheit.

Die Kenntnis der weiteren Kernschicksale innerhalb der Cyste verdanken wir SCHAUDINN, der eine eingehende Darstellung dieses Entwicklungsganges gegeben hat und dessen Beschreibung ich im folgenden in den Hauptpunkten wiedergebe.



Schema des Zeugungskreises von *Entamoeba coli.*

(Nach SCHAUDINN's Darstellung gezeichnet von HARTMANN, aus HARTMANN, „Praktikum der Protozoologie". Jena 1910.)

1—5 Schizogonie der vegetativen Formen, 3 u. 4 Kernvermehrung durch multiple Kernteilung, 5 Zerfallteilung; 3a Zweiteilung der vegetativen Formen; 6—12 Autogamie innerhalb der Cyste, 7 erste Kernteilung, 8 darauffolgende unvollständige Zellteilung und Chromidienbildung, 9 Bildung der Gametenkerne, 10 Bildung je zweier Reduktionskerne, 11 Teilung der reduzierten Gametenkerne in Wanderkern (männlich) und stationären Kern (weiblich), 12 die beiden Synkarien nach Verschmelzung der beiden Wander- und stationären Kerne, 13 u. 14 Sporogonie innerhalb der Cyste, 13 Cyste mit 8 Kernen, 14 Platzen der Cyste und Freiwerden der 8 jungen Amöben im Darm eines neuen Wirtes.

Der ursprünglich einheitliche Kern der Cyste teilt sich durch eine primitive Mitose in zwei Tochterkerne, die nach entgegengesetzten Enden des Plasmakörpers auseinanderrücken. Das die beiden Kerne umgebende Protoplasma verdichtet sich und zwischen diesen beiden Protoplasmamassen bildet sich die oben erwähnte helle Zone, welche den Cysteninhalt zweiteilig erscheinen läßt.

Die beiden Kerne nehmen nun bei Betrachtung der lebenden Cyste an Deutlichkeit ab und können ganz verschwinden, um nach einiger Zeit wieder deutlich, aber an Gestalt kleiner, hervorzutreten.

Im gefärbten Präparat zeigt das diesem Verschwinden der Kerne im lebenden Objekt entsprechende Stadium eine Abgabe von peripherem Kernchromatin an die Umgebung bei gleichzeitiger völliger oder nur teilweise sich vollziehender Auflösung der Kerne. Die Rekonstruktion der Kerne kann nun in mehrfacher Weise erfolgen, doch ist allen von Schaudinn als möglich geschilderten Rekonstruktionsmechanismen gemeinsam die Erhaltung eines Teiles der ursprünglichen Kernsubstanz zum Zwecke der Neubildung des Kernes (Geschlechtskernsubstanz), während der übrige Teil der ursprünglichen Kernsubstanz (Stoffwechselkernsubstanz) zugrunde geht und entweder aus der Cyste ausgestoßen wird oder in ihr verbleibt und der Resorption verfällt. Ob Ausstoßung der Stoffwechselkernsubstanz aus der Cyste erfolgt oder ob diese Substanz in der Cyste verbleibt und resorbiert wird, hängt nach Schaudinn ab von dem Grade der Erhärtung der Cystenhülle; die Ausstoßung erfolgt also dann, wenn die Cystenhülle noch genügend weich ist. Dieser Aussonderung eines Teiles der Kernsubstanzen folgen zwei Reduktionsteilungen der rekonstruierten Kerne. Da immer einer der beiden aus einer Reduktionsteilung hervorgegangenen Kerne zugrunde geht, so sind am Schlusse des Reduktionsvorganges wieder 2 Kerne in der Cyste vorhanden, die aber, da inzwischen die trennende helle Zone verschwunden ist, nun nicht mehr durch einen Spalt voneinander geschieden sind.

Jeder der beiden Kerne teilt sich jetzt mitotisch unter Spindelbildung in zwei Teile. Je einer der Tochterkerne bleibt an seinem Platz (stationärer Kern), während der andere sich auf die gegenüberliegende Seite der Cyste begibt (Wanderkern), um dort mit dem dort zurückgebliebenen stationären Kern zu verschmelzen.

Es handelt sich also um eine Doppelbefruchtung auf dem Wege der Autogamie. Eine diesem Befruchtungsvorgang bei der *Entamoeba coli* des Menschen durchaus entsprechende autogamische Doppelbefruchtung ist von Wenyon (29) bei der *Amoeba muris* beschrieben und abgebildet worden. Aus den zwei nunmehr befruchteten Kernen der Cyste entstehen dann durch eine zweimalige primitive Mitose zunächst 4, dann 8 Kerne.

Die achtkernige Cyste ist außerordentlich charakteristisch für die *Entamoeba coli* als Endstadium der Entwicklungsreihe der Kernsubstanz innerhalb der Cyste.

Die Arbeit Schaudinns, der wir unsere Kenntnis der Veränderungen des Kernapparates innerhalb der Cysten der *Entamoeba coli* verdanken, ist nicht mit Abbildungen versehen — diese sollten der als vorläufige Mitteilung bezeichneten Arbeit später folgen — und es fehlt bisher fast völlig an Abbildungen der Colicysten und der Entwicklung ihres Kernapparates. Der beistehend abgebildete, von Hartmann nach Schaudinns Beschreibung gezeichnete Zeugungskreis gibt die Entwicklung schematisch wieder. Die auf den Tafeln reproduzierten Zeichnungen dieser Kernentwicklungsvorgänge innerhalb der Cyste stammen von mehreren Fällen von Infektionen des menschlichen Darmes mit *Entamoeba coli*, die ich teils an mir selbst, teils an Patienten des Seemannskrankenhauses zu Hamburg beobachtet habe. Die Diagnose auf *Entamoeba coli* konnte stets gestellt werden durch den Nachweis von achtkernigen Cysten.

Auf einige Besonderheiten der auf den Tafeln wiedergegebenen Abbildungen



glaube ich unter gleichzeitigem Hinweis auf die Tafelerklärungen gleich hier hinweisen zu sollen. Zunächst wurde der von SCHAUDINN erwähnte helle Raum von mir bei manchen Formen jüngerer Cysten nicht gefunden (Figg. 15, 23, 27), dagegen fand er sich bereits bei manchen noch einkernigen Cysten (Figg. 16, 17). Sein Vorkommen scheint also inkonstant zu sein und ist bisweilen bereits vor der ersten Kernteilung festzustellen.

Chromidialmassen sind häufig schon bei einkernigen Formen zu finden; andererseits sind die Massen bisweilen noch bei mehr als zwei Kerne aufweisenden Cysten anzutreffen. Die Bildung von Chromidien geht also häufig schon der ersten Kernteilung voraus und auf der anderen Seite bedarf die endgültige Resorption der Chromidien innerhalb der Cyste bisweilen so langer Zeit, daß Chromidialmassen noch vorhanden sind, wenn die Kernteilung innerhalb der Cyste bereits fast vollendet ist.

Das Ausschlüpfen der jungen Amöben aus den achtkernigen Cysten findet nach unserer bisherigen Kenntnis physiologisch nur im Darm des nächsten Wirtes (Mensch, Katze oder anderes Säugetier) statt. Gelegentlich kann man, wohl infolge eines Traumas, auch unter dem Deckglas diesen Vorgang beobachten, wie dies Fig. 46 zeigt.

Der Nachweis der Möglichkeit der Übertragung durch den Übergang der achtkernigen Cysten in den Verdauungskanal eines anderen Wirtes wurde zuerst geführt durch CALANDRUCCIO, dem es gelang, Menschen durch Verfütterung von Cysten der *Entamoeba coli* zu infizieren, und zwar ohne daß Krankheitserscheinungen auftraten. Die experimentellen Untersuchungen von CASAGRANDI und BARBAGALLO an Katzen haben ergeben, daß die Cysten lebens- und weiterentwicklungsfähig den Magen passieren, und daß sie dabei größer werden und eine Erweichung ihrer Kapseln erfahren. Das Ausschlüpfen der jungen Amöben findet im Anfangsteil des Dickdarmes statt, nachdem es durch die im Magen bzw. Dünndarm erfolgende Kapselerweichung vorbereitet ist. — Die Selbstinfektion mit *Entamoeba coli*, und zwar nur mit den achtkernigen Cysten derselben, ist auch SCHAUDINN zweimal gelungen.

Nach allem, was wir klinisch und experimentell von der *Entamoeba coli* wissen, müssen wir annehmen, daß sie nicht pathogen ist. Alle Übertragungen, die auf Menschen und Katzen mit zweifelloser *Entamoeba coli* vorgenommen worden sind, blieben ohne krankmachende Folgen für den infizierten Darm; ja CASAGRANDI und BARBAGALLO gehen sogar so weit, die *Entamoeba* als einen nützlichen Kommensalen des menschlichen Darmes zu bezeichnen, indem sie der *Entamoeba coli* eine die Überhandnahme schädlicher Darmbakterien hindernde Tätigkeit vindizieren.

Der Ort, an welchem die *Entamoeba coli* im Darm des Menschen lebt, ist der obere Teil des Dickdarmes. Mit der Konsistenzzunahme des Dickdarminhaltes vollzieht sich die Encystierung der Amöben. Die Folge dieses Umstandes ist, daß man im festgeformten Stuhlgang wenig Chancen hat, vegetative Formen, wohl aber Cysten zu finden. Aus dem gleichen Zusammenhange erklärt sich das reichliche Vorkommen vegetativer Formen der *Entamoeba coli* nach Darreichung salinischer Abführmittel.

Gegen diese Medikation erweist sich die *Entamoeba coli* ebenso wie gegen stärkere Abführmittel, wie Kalomel, in hohem Grade resistent. Ich fand nach einer eine Woche lang fortgesetzten Medikation von täglich 0,1 Kalomel die Amöben wenige Tage nach dem Aussetzen dieser Medikation wieder im Stuhlgang, nachdem sie während der Höhe der Kalomelwirkung für einige Tage gänzlich ausgeblieben waren.

Die Kultivierung der *Entamoeba coli* auf künstlichen Nährböden ist bisher nicht gelungen. Die in der Literatur so zahlreich berichteten gelungenen Kultivierungs-

versuche sind mit großer Vorsicht aufzunehmen. — Es handelt sich dabei größtenteils um Kultivierung von nicht parasitären, zur Limaxgruppe gehörenden Amöben, deren Cysten unverändert den menschlichen bzw. Katzendarm passieren und sich nach dieser Passage auf künstlichen Nährböden weiterentwickeln. Ich konnte diesen Vorgang auch für den Darm der Stubenfliege nachweisen, durch welchen zwar Limaxcysten ungeschädigt passieren, durch welchen aber parasitäre Amöben vernichtet werden.

Die Erkennung der *Entamoeba coli* im Stuhlgang des Menschen bietet dann keine Schwierigkeiten — und zwar schon bei Betrachtung des frischen Stuhlpräparates — wenn achtkernige Cysten vorhanden sind, die mit keinem anderen Stuhlbilde verwechselt werden können. Das Vorhandensein achtkerniger Cysten sichert die Diagnose *Entamoeba coli*, schließt aber das gleichzeitige Vorhandensein von *Entamoeba histolytica* oder *Entamoeba tetragena* nicht aus.

Zur Unterscheidung der vegetativen Formen von denen der *Entamoeba histolytica* ist man auf den für die beiden Arten charakteristischen Kernbau und auf die kennzeichnenden Beziehungen vom Ento- und Ektoplasma angewiesen. Die morphologischen Details des Kernes werden sich häufig erst am gehärteten und gefärbten Präparat feststellen lassen und auch bei dieser Untersuchung ist häufig die Differentialdiagnose zwischen *histolytica* und *coli* noch schwierig genug. Das gleiche gilt von der Unterscheidung der vegetativen Form der *Entamoeba coli* von der der *Entamoeba tetragena*.

Von den Cysten der *Entamoeba tetragena* ist nach meiner Erfahrung das bisher einzig sichere Unterscheidungsmittel die achtkernige Cyste der *Entamoeba coli*, deren Vorhandensein ohne weiteres die Diagnose der Colicyste zuläßt. Sind die im zu untersuchenden Stuhlgang vorhandenen Cysten vierkernig oder weniger als vierkernig, so dürfte die Unterscheidung häufig schwierig sein. Jedenfalls möchte ich vor vorzeitiger Stellung der Diagnose *tetragena* warnen, die leicht möglich ist, wenn man bei wiederholten Untersuchungen nur Formen mit 4 oder weniger als 4 Kernen findet. Die achtkernigen Cysten sind häufig erst nach wiederholten Untersuchungen zu finden, nachdem lange fortgesetzte Untersuchungen nur jüngere, d. h. weniger Kerne aufweisende Colicysten ergeben haben.

Literaturverzeichnis.

1. Anderson, Ind. med. gaz. 1907.
2. Ashburn und Craig, The military surgeon. 1907.
3. Calandruccio, Atti dell. Ac. di sc. nat. di Catania 1889—90.
4. Casagrandi und Barbagllo, Ac. Gioenia d. sc. nat. di Catania, Catania 1895.
5. Dieselben, *Entamoeba hominis* s. *Entamoeba coli* (Loesch). Annali d'Igiene speriment. Vol. 7 Fasc. 1. 1897.
6. Celli und Fiocca, Rif. med. 1895.
7. Councilman und Lafleur, John Hopkins Hospital Reports.
8. Craig, The Journal of inf. diseases. 1908.
9. Derselbe, Amer. med. 1905. 9. pag. 854, 897, 936.
10. Cunningham, Quart. Journ. of micr. science 1881, 21.
11. Elmassian, Zentralbl. f. Bakt. 1909 Orig. Bd. 51, Heft 3 u. 4.
12. Grassi, Dei protozoi parassitici et specialmente di quelli che sornell nomo. Mailand 1879. Zit. nach Gas. u. Barb.

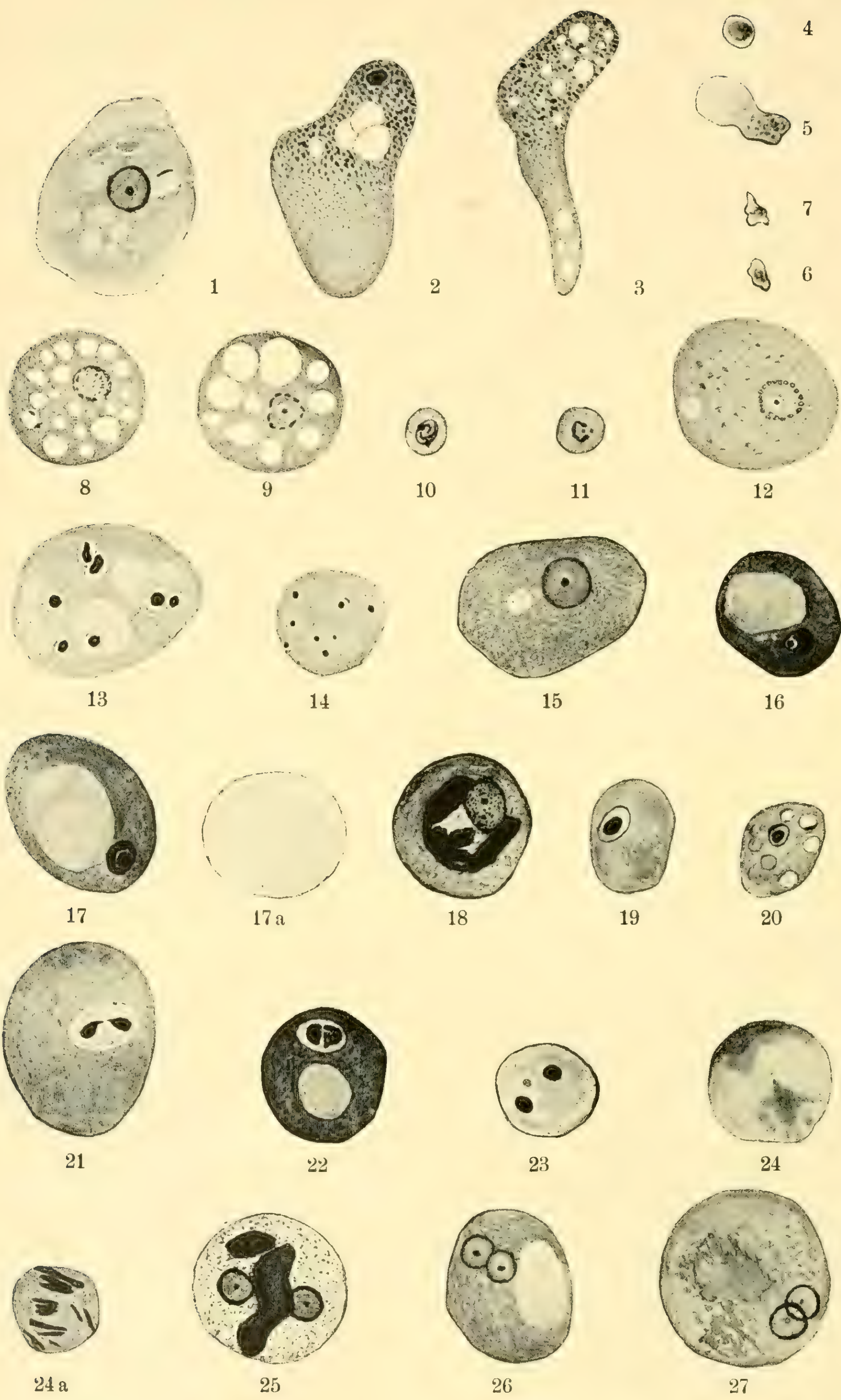
13. Grassi, Atti Soc. it Sc. nat. Vol. XXIV. Milano 1882.
14. Derselbe, Atti Ac. Lincei. Vol. IV. sed. 8. qen. 1888.
15. Grassi und Calandruccio, Atti Ac. Lincei Vol. IV. sed. 8. qen. 1888.
16. Hartmann, Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. Beiheft 1908.
17. Hoyt, R. E., The Philippine Journ. of science. Vol. 3. N. 5.
18. Kartulis, Kolle-Wassermann, Ergänzgs.-Bd.
19. Kruse und Pasquale, Zeitschr. f. Hyg. 1894.
20. Kuenen, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1909. Beiheft.
21. Loesch, Virchows Arch. Bd. 65.
22. McCarrison, Rob., Quart. Journ. of micr. science.
23. Musgrave and Clegg, The Philippine Journ. 1906, Nr. 9.
24. Quinke und Roos, Berl. klin. Wochenschr. 1893, Nr. 43.
25. Schaudinn. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt XIX. S. 563.
26. Schuberg, Zentralbl. f. Bakt. Orig. 1893.
27. Vedder, Journ. of Am. med. ass. 1906.
28. Viereck, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1907.
29. Wenyon, Arch. f. Protistenkd. 1907.

Tafelerklärung.

Tafel II.

Fig. 1. Vegetative Form der *Entamoeba coli* *). Eigene Beobachtung.
„ 2. Vegetative Form der *Entamoeba coli* (lebend) nach Casagrandi und Barbagallo.
„ 3. Vegetative Form der *Entamoeba coli* (lebend), nach Casagrandi und Barbagallo. Kern nicht sichtbar.
„ 4—7. Kleine vegetative Formen der *Entamoeba coli* (lebend). Eigene Beobachtung.
„ 8. Vegetative Form der *Entamoeba coli* (lebend) keine Differenzierung von Ekto- und Entoplasma. Eigene Beobachtung.
„ 9. Zyklische Anordnung des Karyosoms (lebend). Eigene Beobachtung.
„ 10 u. 11. Kerne von *Entamoeba coli*, lebend beobachtet; zyklische Anordnung des Karyosoms. Eigene Beobachtung. Die Protoplasmamasse des Amöben ist nicht mit abgebildet.
„ 12. Lichtbrechende Körnchen, welche der Kernmembran angelagert sind, lebend beobachtet. Eigene Beobachtung.
„ 13 u. 14. Achtkernige vegetative Formen der *Entamoeba coli* *). Eigene Beobachtung.
„ 15. Einkernige Cyste der *Entamoeba coli* ohne Vakuole. Eigene Beobachtung.
„ 16. Einkernige Cyste der *Entamoeba coli* mit Vakuole*). Eigene Beobachtung.
„ 17. Einkernige Cyste der *Entamoeba coli* mit Vakuole*). Eigene Beobachtung.
„ 17a. Cyste der *Entamoeba coli* (lebend). Im Innern 2 helle, lichtbrechende Körper (Vakuolen). Eigene Beobachtung.
„ 18. Einkernige Cyste der *Entamoeba coli* mit Chromidialmassen*). Eigene Beobachtung.
„ 19 u. 20. Einkernige Protozoenform (Cyste von *Entamoeba coli?*) *). Eigene Beobachtung.
„ 21. Einkernige Cyste der *Entamoeba coli* in Kernteilung*). Eigene Beobachtung.
„ 22. Einkernige Cyste der *Entamoeba coli* in Kernteilung*). Eigene Beobachtung.
„ 23. Cyste der *Entamoeba coli*; 2 Kerne, an denen sich morphologische Details nicht erkennen lassen*). Eigene Beobachtung.
„ 24. Cyste der *Entamoeba coli*, in der Kerne nicht zu erkennen sind; zwei Anhäufungen von Chromidialmassen im Innern der Cyste*). Eigene Beobachtung.

*) Die Abbildungen wurden nach Zeichnungen gemacht, die mit Zeiß Oelimmersion 2 mm, apert. 1,30 und mit Compens. Okul. 12 angefertigt wurden; nach feucht gehärteten und gefärbten Präparaten. Vergrößerung 1800.

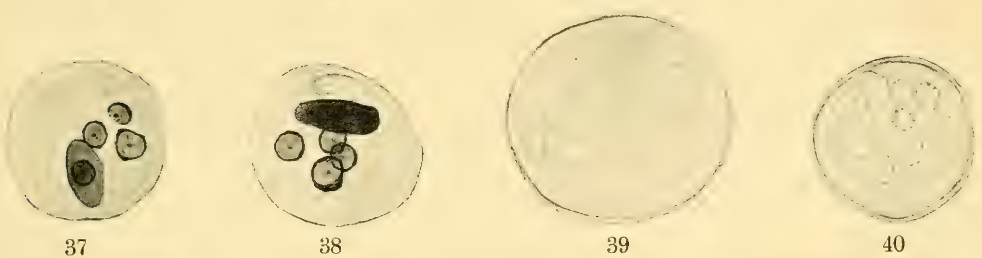

1
2
3
4
5
7
6
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
17 a
18
19
20
21
22
23
24
24 a
25
26
27



28 29 30 31 32



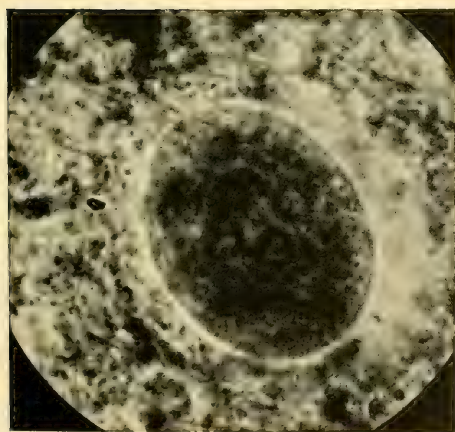
33 34 35 36



37 38 39 40



41 42 43



45



43 44



46 47

Fig. 24a. Cyste der *Entamoeba coli* ohne Kern mit Chromidialmassen*). Eigene Beobachtung.
„ 25. Zweikernige Colicyste mit Chromidialmassen*). Eigene Beobachtung.
„ 26. Zweikernige Colicyste mit Vakuole*). Eigene Beobachtung.
„ 27. Zweikernige Colicyste*). Eigene Beobachtung.
„ 28. Vierkernige Colicyste. 2 Kerne zu Reduktionskörpern umgewandelt*). Eigene Beobachtung.
„ 29. Vierkernige Colicyste*). Einseitige Verdickungen an der Kernmembran. Eigene Beobachtung.
„ 30. Vierkernige Colicyste*). Einseitige Verdickungen an der Kernmembran. Eigene Beobachtung.
„ 31. Dreikernige Colicyste mit Chromidialkörper (lebend). Eigene Beobachtung.
„ 32. Vierkernige Colicyste mit Chromidialkörper*). Die Kerne weisen einseitige Verdickungen an der Membran auf. Eigene Beobachtung.
„ 33. Vierkernige Colicyste mit Chromidialkörper*). Eigene Beobachtung.
„ 34. Dreikernige Colicyste mit Chromidialkörper (lebend). Eigene Beobachtung.
„ 35. Vierkernige Colicyste*). Eigene Beobachtung.
„ 36. Vierkernige Colicyste (lebend). Die Kerne weisen teilweise einseitige Membranverdickungen bzw. Verdünnung auf. Chromidialkörper. Eigene Beobachtung.
„ 37. Vierkernige Colicyste mit Chromidialkörper*). Eigene Beobachtung.
„ 38. Vierkernige Colicyste mit Chromidialkörper*). Eigene Beobachtung.
„ 39. Vierkernige Colicyste (lebend). Eigene Beobachtung.
„ 40. Siebenkernige Colicyste (lebend) mit länglichem Chromidialkörper. Eigene Beobachtung.
„ 41. Achtkernige Colicyste (lebend). Eigene Beobachtung.
„ 42. Siebenkernige Colicyste (lebend) mit länglichem Chromidialkörper. Eigene Beobachtung.
„ 43. Achtkernige Colicyste*). Eigene Beobachtung.
„ 44. Siebenkernige Colicyste*). Ein Kern stark vergrößert, vor Teilung. Eigene Beobachtung.
„ 45. Achtkernige Colicyste, Photographie. Eigene Beobachtung. Vergröß. 1500.
„ 46. Achtkernige Colicyste*). Sprengung der Cystenhülle und Austritt des Cysteninhalts. In dem austretenden Teil sind 2 Kerne enthalten.
„ 47. Amöbenähnliche Zelle, wie man sie bei desquamativem Dickdarmkatarrh häufig findet, die im frischen, ungefärbten Präparat leicht mit Amöben verwechselt werden können.

Flagellaten (Trichomonas, Lamblia).

Von

E. Rodenwaldt.

Mit Tafel III.

Das strittige Gebiet der Ätiologie dysenterischer Erkrankungen ist nicht zu völligem Frieden gelangt, seitdem den pathogenen Amöben ihre nunmehr wohl unangefochtene ätiologische Stellung eingeräumt wurde. Es hat die sorgfältige Untersuchung dysenterischer Entleerungen mit den modernsten mikroskopischen Methoden hier eine Reihe zur Klasse der Flagellaten gehörige Protozoen in den Kreis der Diskussion gezogen, die bis dahin zwar bekannt, aber nach den Eigenschaften einiger ihrer Vertreter in ihrer Gesamtheit als harmlose Commensalen betrachtet wurden.

Die Frage ihrer Pathogenität, das muß hier gleich einleitend gesagt sein, ist vorläufig weit von ihrer Lösung; für einige Vertreter ist sie schon jetzt wohl sicher in negativem Sinne zu beantworten. Die Zahl der beobachteten Fälle ist auch, wenigstens für europäische Verhältnisse, viel zu gering, um der Frage eine gewisse Aktualität zu verleihen. So werden, vom Standpunkt der klinischen Betrachtung, wohl noch Jahre vergehen, bis es gelingen kann, auf Grund umfangreichen Materials ein entscheidendes Urteil zu fällen.

Wenn diese Parasiten trotzdem zurzeit in der protozoologischen Forschung mit im Vordergrund des Interesses stehen, so liegen die Gründe hierfür mehr auf dem Gebiet der Zellbiologie. Ihre Fortpflanzungsvorgänge scheinen berufen zu sein, für die Frage der Autogamie eine wesentliche Rolle zu spielen, ihre Kernverhältnisse bieten infolge der zahlreichen vom Kern ausgehenden Differenzierungsprodukte das gegebene Material für Kernstudien und auf diesen beruhenden systematischen Versuchen.

Handelt es sich auch bei diesen Zellproblemen in erster Linie um theoretisch wichtige Ergebnisse, so wirkt doch wiederum die gewonnene Erkenntnis insofern in praktisch klinischer Richtung, als wir auf Grund der jetzt erst klarer erkannten Morphologie, Biologie und Systematik in die Lage gelangen, das ältere klinische Material kritisch zu sichten und neue Beobachtungen auf diesem Gebiet so sicher einzureihen, daß im Verlauf von Jahren die Frage, ob diesen Organismen pathogene Eigenschaften zukommen oder nicht, ihrer Entscheidung entgegengeführt werden kann. Ob diesen Flagellaten dann überhaupt noch in einem Handbuch der pathogenen Protozoen ein Platz gebührt, diese Frage ist, wie gesagt, zurzeit noch völlig offen.

Von ihr abstrahierend müssen wir aber zurzeit sagen, daß die parasitischen Flagellaten mit den auf dem Gebiet der sicher pathogenen Protozoen im Vordergrund stehenden Problemen so eng verknüpft sind —, ich erinnere hier nur an die Frage der Doppelkernigkeit und an die Fortpflanzungsprobleme —, daß ihre Behandlung an dieser Stelle vom augenblicklichen Stande der Protozoenforschung aus als eine Notwendigkeit

zu betrachten ist. Aus diesem Grunde wird sich auch nicht vermeiden lassen, in folgendem auch tierische Parasiten zu Parallelen heranzuziehen, während andererseits beim Menschen beobachtete Flagellaten, ich nenne hier nur einige gelegentlich beobachtete Cercomonas, infolge ihrer unzureichenden Beschreibung in der Literatur nur eben erwähnt werden können.

Die Frage der systematischen Stellung ganz außer acht lassend, die gerade zurzeit durch eine neue Arbeit von Hartmann und Chagas von neuem zur Diskussion gestellt wird, werden diejenigen Organismen besprochen werden, die in der klinischen und zoologi chen Literatur unter den Namen Cercomonas, Trichomonas, Trichomastix und Lamblia (Megastoma) geführt werden.

Technik.

In gut mit Wachs umrandeten Präparaten halten sich die Flagellaten lange Zeit lebend, in der Schulze'schen feuchten Kammer bis 14 Tage. Da die Bewegungen allmählich an Intensität nachlassen, kann man lähmende Mittel oder bewegungshemmende Zusätze zu dem Medium vermeiden. Eine Reihe der morphologischen Eigenschaften, auch der Cystenformen sind dann besonders bei Anwendung von Vitalfärbungsmitteln deutlich zu sehen. Für die Erkennung der Geißeln, ihrer Zahl, Schlagart und Insertion kann man sich mit gutem Erfolg des Dunkelfeldes bedienen, in welchem besonders die Bewegungen der Lamblien sehr gut sichtbar werden.

Die beste Färbemethode ist die Eisenlackfärbung nach Heidenhain. Mit der Rosenbusch'schen Modifikation, die für Trypanosomen so ausgezeichnete Resultate gegeben hat, habe ich hier weniger günstige Erfolge gesehen, wenigstens was die Geißelfärbung angeht. Die besten Färbungen der in heißem Sublimatalkohol fixierten Präparate wurden erzielt, wenn die Präparate über drei Tage in der Beize liegen blieben und nach der Färbung sehr langsam in stark verdünnter Beize differenziert wurden. Über die neue Färbung feuchtfixierter Präparate mit Eosin-Methylenblau nach Giemsa fehlen mir eigene Erfahrungen, doch glaube ich eine solche Färbung empfehlen zu müssen, nachdem ich in orientierenden Präparaten, die, trocken ausgestrichen mit Giemsa-Lösung gefärbt wurden, zwar deformierte, aber in ihren morphologischen Elementen schön durchgefärbte Flagellaten gesehen habe; bei den Lamblien ist auch die Deformation kaum nennenswert. Selbstverständlich sind aber aus solchen trocken fixierten Präparaten irgendwelche Schlüsse von Wert nicht zu machen. Nur bei den Cysten der Trichomonaden erleichtert in Trockenpräparaten die vergrößerte und auseinandergeflossene Form häufig die Deutung der im feucht fixierten Präparate, wo die einzelnen Elemente oft sehr eng aneinander gerückt sind, gesehenen Bilder, um so mehr als in diesen Präparaten sich die Cystenmembran nur viel weniger mitfärbt, da es sich ja um eine substantive Färbung handelt.

Trichomonaden.

Die bei allen Wirbeltieren ungemein verbreitete Gattung der Trichomonaden ist nach dem bisherigen Stande der Literatur beim Menschen durch zwei Species, *Trichomonas vaginalis* und *Trichomonas intestinalis, sive hominis* vertreten. Von diesen beiden ist die erstere nach ihrem Vorkommen ausschließlich auf der Vaginalschleimhaut und nach ihren morphologischen Eigenschaften als eine sichere Art zu bezeichnen, obwohl auch für sie die Äußerung Bensen's zutrifft, daß bis vor kurzem unsere Kenntnis ihres Baues und ihrer Entwicklung wie bei den anderen Trichomonaden eine sehr geringe war. Für die *Trichomonas intestinalis* gilt dies trotz der sorgfältigen Arbeiten von Bensen auch heute noch in gewissem Sinne. Es ist keineswegs entschieden, ob

wir nicht bei den im Darmkanal und gelegentlich im Magen und in der Mundhöhle beobachteten Trichomonaden ganz verschiedene Species vor uns haben, wodurch dann die in mehreren Punkten sich widersprechenden Angaben der einzelnen Autoren bezüglich der Morphologie vielleicht ihre Erklärung finden würden. Bezüglich einer Trichomonas, die ich selbst Gelegenheit hatte längere Zeit bei einem an Amöbendysenterie leidenden Manne zu beobachten, kann ich mit Sicherheit sagen, daß eine von *Trichomonas intestinalis* verschiedene Species vorlag.

Bezüglich der Pathogenität sind die Autoren darüber einig, daß wir in Trichomonas vaginalis, welche bei dreißig bis vierzig Prozent aller Frauen in völliger Gesundheit gefunden wird, eine sicher nicht pathogene Art vor uns haben; auf diese Species soll an dieser Stelle daher nur deshalb eingegangen werden, weil gewisse Verhältnisse ihrer Morphologie und Entwicklung zum Verständnis der verwandten Species beitragen.

Ob der *Trichomonas intestinalis* und ihren Verwandten pathogene Eigenschaften zukommen, ist noch ebenso unentschieden wie bei der weiterhin zu besprechenden *Lamblia intestinalis*.

Trichomonas intestinalis.

Trotz der fast völligen Übereinstimmung des Baus der vegetativen Formen spricht der konstante Unterschied der Größenverhältnisse dafür, daß wir in *Trichomonas intestinalis* eine von der viel größeren *Trichomonas vaginalis* verschiedene Species vor uns haben, eine Auffassung, die durch neuere Untersuchungen von Bensen über die Entwicklungsvorgänge der beiden Species fast zur Sicherheit erhoben ist.

Trichomonas intestinalis ist ein 5—10 μ langer, 2—3 μ breiter Flagellat von ausgesprochen birnförmiger Gestalt, die auch im feucht fixierten Präparat deutlich erhalten bleibt. Es erscheint nicht ganz ausgemacht, ob diese Birnform ganz genau der Wirklichkeit beim lebenden Individuum entspricht. Neben den gewöhnlichen Pendelbewegungen werden mitunter eigentümlich schraubende Bewegungen beobachtet, die nicht ohne weiteres auf die undulierende Membran zurückzuführen sind; diese lassen daran denken, daß eine gewisse Drehung in der Art eines von links nach rechts gewundenen Korkenziehers durch den Körper des Tieres geht. Eine ähnliche Torsion des Körpers ist von v. Prowazek von dem verwandten *Bodo lacertae* beschrieben, er vergleicht dort die Drehung des hinteren Körperendes der eines Zimmermannbohrers. Am Vorderende entspringen von einem Basalkorn drei gleichlange Geißeln, welche in ihrem unteren starreren Drittel häufig verklebt sind. Während der starre Anteil der Geißeln nach der Seite des Peristoms etwas hinübergebogen ist, schwingen die freien Enden der drei Geißeln vom Peristom fort und ihm zu; die letztere Schwingung vermittelt die Vorwärtsbewegung. Bei *Trichomatix lacertae* beschreibt v. Prowazek eigentümliche Spiralsäume der Geißeln, die eine gewisse Ähnlichkeit haben mit den Bildern, welche mehrfach von den undulierenden Membranen der Spirochäten gegeben worden sind. Von späteren Bearbeitern dieser Flagellaten wird eines solchen Befundes nicht wieder Erwähnung getan, mir selbst ist es nicht gelungen, derartige Bilder färberisch zu gewinnen.

Das Basalkorn, von welchem die Geißeln entspringen, ist mit dem Kern durch einen feinen Rhizoplasten verbunden, der bei geeigneter Differenzierung im Hämatoxylinpräparat fast immer nachweisbar ist (Fig. 1). Eine vierte Geißel, die mehrfach beschrieben worden ist, scheint auf einem auch in einwandfrei angefertigten Präparaten häufig vorkommenden Kunstprodukt zu beruhen. Es handelt sich hier wahrscheinlich um den abgelösten Randfaden der undulierenden Membran. Alle diese Geißelgebilde

sind überaus zart und empfindlich, mitunter verliert sogar das Tier bei der Fixierung seine Geißeln vollständig, so daß die Ablösung des Randfadens nicht Wunder nehmen kann; in gewöhnlichen trockenen Ausstrichpräparaten kann man sich solche viergeißelige Formen ohne weiteres verschaffen, weil sich hier der Randfaden fast immer ablöst.

Ob die Randfibrille der undulierenden Membran, die sogenannte Saumgeißel, von demselben Basalkorn wie die drei Schwunggeißeln oder von einem zweiten, unmittelbar daneben liegenden entspringt, ist noch nicht sicher entschieden; für *Trichomonas vaginalis* ist es sicher der Fall. Nach meinen eigenen Untersuchungen halte ich die Annahme des zweiten Basalkorns für gesichert. Um zunächst jedoch die undulierende Membran zu erledigen, so ist zu sagen, daß sie über die Längsachse des Körpers spiralig hin verläuft und in ihrem freien Rande die Saumgeißel trägt, welche mitunter noch mit einem freien Teil als Schleppgeißel den Körper des Tieres nach hinten überragt. Es entstehen dann ähnliche Bilder wie bei den beim Menschen bisher nicht beobachteten Trichomastix, wo die undulierende Membran fehlt und der Randfaden als eine freie

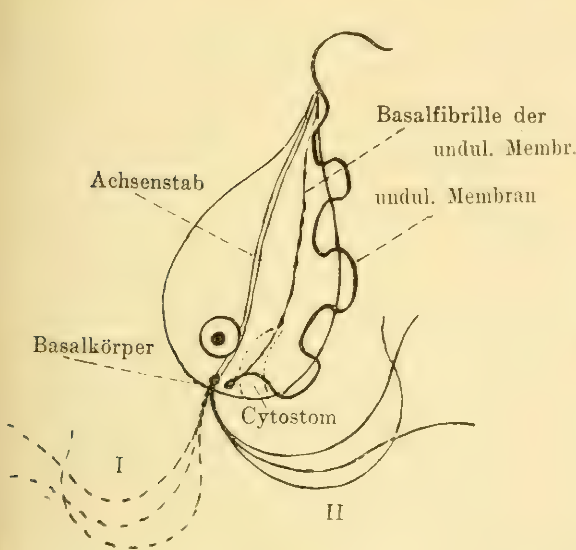


Fig. 1. Schlagphasen der Schlaggeißeln. Phase II vermittelt die Vorwärtsbewegung.

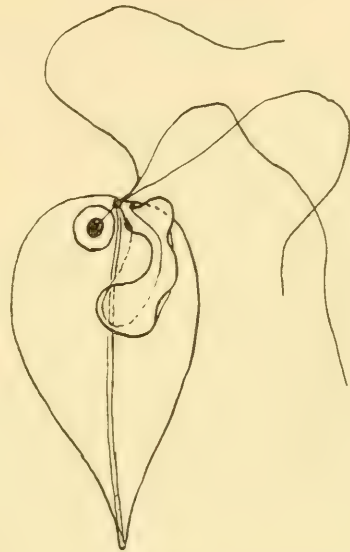


Fig. 2. Diagramm einer Trichomonasform mit einer das Peristom umlaufenden undulierenden Randlippe.

Schleppgeißel, wie bei Bodo das Tier nach hinten überragt. Am Körper selbst dient der undulierenden Membran eine Basalfibrille als Grundlage, welche je nach der Intensität der Färbung als solide Fibrille oder als Körnchenreihe erscheint. Neben und nach hinten von den Basalkörnern geht ein hakenförmiges Peristom in den Körper des Tieres hinein, welches unbewehrt ist. Die oben erwähnte von mir beobachtete Form, in der ich eine neue Species sehe, zeigt darin einen charakteristischen Unterschied von der soeben beschriebenen Form, daß bei ihr die undulierende Membran nicht zum Körperende verläuft, sondern als undulierende Randlippe das Peristom umgibt. Der Randfaden nimmt in diesem Falle von dem einen Basalkorn seinen Ursprung und endet an dem anderen (Fig. 2).

Über ein weiteres Organ, den sogenannten Achsenstab gehen die Ansichten erheblich auseinander. Während Hartmann und seine Schüler annehmen, daß der Achsenstab vom Kern ausgeht, vertritt Dobell die Ansicht, daß er mit dem einen Basal-

korn in Verbindung steht. Nach eigenen Präparaten von Trichomonaden aus einer Schlange sowie von einem besonders gut färbbaren Fall von *Trichomonas intestinalis* vom Menschen besteht für mich nicht der geringste Zweifel, daß die Ansicht von Dobell die richtige ist. In diesen Präparaten lief der Achsenstab stark gefärbt ganz deutlich neben dem ebenfalls klar gefärbten Kern vorbei zu dem Basalkorn hin. Auch v. Prowazek hat diese Präparate gesehen und sich ebenfalls wie früher in seiner Arbeit über *Trichomastix lacertae* in dieser Richtung ausgesprochen. Bei *Trichomastix lacertae* soll sich nach v. Prowazek zwischen Basalkorn und Achsenstab eine Ansammlung hellen Protoplasmas einschieben, ähnlich wie bei den Trypanosomen zwischen Blepharoplast und Randfaden der undulierenden Membran.

Wo zwei Basalkörner deutlich unterscheidbar waren, wie in dem erwähnten Fall vom Menschen, stand der Achsenstab mit dem Ursprungsbasalkorn der drei Schlaggeißeln in Verbindung, in dem Fall von der Schlange hatte es den Anschein, als spaltete sich der Achsenstab in zwei Fibrillen, welche den zwei Basalkörnern zustrebten. Daß natürlich eine große Menge von Bildern in den Präparaten erscheinen müssen, wo der Achsenstab scheinbar in den Kern hineinverläuft, ist bei der Organisation des Tieres selbstverständlich. Das erste Präparat aber, in dem man ihn deutlich n e b e n dem Kern vorbeilaufen sieht, erschüttert die Annahme einer Verbindung mit dem Kern.

Das von Bensen gesehene feine Körnchen an der Stelle, wo der Achsenstab den Kern nach hinten verläßt, erklärt sich dann so, daß bei Überlagerung von Achsenstab und Kern in der Aufsicht an dieser Stelle seiner Überkreuzung mit der Kernmembran eine Verdickung erscheint.

Der Achsenstab hat nach v. Prowazek, Hartmann und anderen die Bedeutung eines formgebenden Elements, eines Skelets und als solches elastische Eigenschaft. Er kann sich also n i c h t verlängern oder verkürzen. Diese Tatsache ist neuerdings durch Hartmann durch Messungen an verwandten Species festgelegt worden. Der Kern präsentiert sich im gefärbten Präparat in sehr verschiedener Gestalt. Mitunter rund, häufiger oval, ist er immer durch eine sehr deutliche Kernmembran ausgezeichnet. Es folgt nach innen meist eine sehr helle achromatische Zone, welche das kompakte Caryosom umgibt, welches ich bei *Trichomonas intestinalis* des Menschen häufiger exzentrisch als im Centrum liegend fand, meist war es dem nach den Basalkörnern hinliegenden Pol genähert. In einzelnen Fällen sind, ohne daß sich sonst an der Zelle Anzeichen einer beginnenden Teilung nachweisen lassen, zwei Caryosome nachweisbar und häufig liegen zwei halbmondförmige Chromatinmassen an den Seitenpolen des Kerns. Auch vier gleichmäßig große Chromatinmassen, welche der Kernmembran anliegen, gelangen zur Beobachtung. Ferner fanden sich Kerne mit einer einzigen großen halbmondförmigen Chromatinmasse am vorderen Pol und Kerne mit feinverteilten Chromatinbröckeln, wie sie Dobell beschreibt.

Das Plasma des Parasiten ist feingekörnt, grobkörniger bei *Trichomonas vaginalis* und weist fast immer eine große Anzahl mitunter nahe beieinander liegender Nahrungsvakuolen auf, in denen sich Bakterien färberisch darstellen lassen. Daß diese Vakuolen auf ihren Inhalt einen erheblichen Druck ausüben, kann man an der Verkrümmung nicht nur doppelter, sondern auch einfacher Stäbchen sehen. Ein Hervorgehen dieser Vakuolen vom Peristom her ist noch nicht beobachtet worden, doch liegen die größeren Vakuolen immer dem Peristom näher.

Teilung.

Einfache Zweiteilung der vegetativen Form und zwar Längsteilung kommt bei *Trichomonas intestinalis* des Menschen zweifellos vor, ist aber für diese Species bisher genauer nicht dargestellt worden.

Auch für die naheverwandten Species von Schlangen, Eidechsen, Meerschweinchen ist ein einigermaßen lückenloser Teilungsvorgang noch nicht gegeben worden, jedoch scheint alles dafür zu sprechen, daß sich dieser Vorgang in ähnlicher, wenn nicht in identischer Weise vollzieht, wie bei den Trichomastixformen. Hier liegen zwei in einigen Punkten differierende Beschreibungen von v. PROWAZEK und DOBELL vor, welche aber doch in den Grundzügen ein übereinstimmendes klares Bild geben, vor allem in dem Punkt, daß es sich zweifellos um eine Längsteilung handelt. Daß eine Reihe von Zweifeln vorläufig noch ungelöst sind, liegt an der großen Seltenheit, mit der Teilungsvorgänge beobachtet worden sind. Beim lebenden Individuum ist eine vollständige Beobachtung überhaupt noch nicht gelungen, vom gefärbten Präparat sagt DOBELL selbst, daß er Hunderte gutgefärbter Präparate durchmustert habe, bis er geeignete Stadien fand. So liegt also eine Beobachtungsreihe des Prozesses von Anfang bis zum Abschluß bei ein und demselben Individuum noch nicht vor.

Bei *Trichomastix batrachorum* verläuft der Vorgang der Teilung nach DOBELL so, daß im Beginn Achsenstab und Kernmembran verschwinden, daß dann die beiden nahe aneinander gelagerten Basalkörper, von deren einem die 3 Schwunggeißeln, von deren anderem die Schleppgeißel (bei Trichomonas der Randfaden der undulierenden Membran) entspringt, unter Bildung eines erst gebogenen dann gestreckten Stabes auseinanderrücken. Der Körper des Tieres verliert während dieses Prozesses seine Birnform und wird triangular, später nierenförmig. Die Chromatinmassen des Kerns, bezüglich deren eine Zählung nach einzelnen Chromosomen nicht gelang, ordnen sich um den neuentstandenen Stab an, so daß eine Figur entsteht, die eine gewisse Ähnlichkeit mit einer Teilungsspindel hat, jedoch waren achromatische Spindelfibrillen niemals nachweisbar. Die Geißeln haben sich bereits vorher derart geteilt, daß die eine der drei Schlaggeißeln zur Schleppgeißel hinüber an das andere Basalkorn gewandert ist, so daß an den basalkornartig verdickten Enden des Stabes jederseits zwei Geißeln hängen. Hier bilden sich dann allmählich die noch fehlenden neuen Geißeln, während indessen die Chromatinmassen sich in zwei Hälften teilen, die den Stabenden zuwandern. Die weitere Teilung vollzieht sich so, daß sich das gesamte Plasma in zwei Hälften sondert, welche den beiden neuen Zellcentren zustreben, worauf die neuen Individuen schließlich nur noch durch den stark in die Länge gezogenen Stab zusammenhängen, aus dem nach Durchreißen der schmalen Verbindungsbrücke die Achsenstäbe der neuen Trichomastix entstehen.

Insofern als DOBELL also den Achsenstab als die restierende Centrodesmose der Basalkörper ansieht, spricht er mit Recht von diesen als Blepharoplasten, wenn man diesen Namen ausschließlich morphologischen Organen dieser Art von zweifelloser Kernnatur zulegen will. Auf den ersten Blick sehr ähnliche Bilder, die er bei *Trichomastix lacertae* gewonnen hat, deutet v. PROWAZEK wesentlich anders. Nach ihm geht der Achsenstab keineswegs verloren, sondern verkürzt sich nur, wird breiter und gewinnt keilförmige Gestalt. Er beginnt sich alsdann senkrecht zu seiner früheren Richtung zu zerdehnen und bildet so ein dem Kern anliegendes Querstäbchen. Die Kernmembran verschwindet auch hier alsdann, und die zu Klümpchen verbackenen Chromatinteile beginnen sich längs des Stabes zu teilen und an seinen Enden zu einer Art von Polkappen zu verdicken, die jedoch n i c h t genau symmetrisch den Enden des Stabes anliegen; von einer Stemmwirkung, wie wir sie bei dem Caryosom mancher Protozoenkerne beobachten, ist hier also nicht die Rede. Im Gegenteil verbiegt sich der Stab sehr bald winklig, verdickt sich an den Enden und es erfolgt dann, wie oben bei DOBELL beschrieben die Auseinanderzerrung, wobei in ähnlicher Weise zwei neue Achsenstäbe resultieren, die aber hier Abkömmlinge des alten Achsenstabes sind. HARTMANN nimmt für eine Cercomonasform an, daß der Achsenstab als die persistierende Centrodesmose des Kerns aufzufassen sei (im Einklang mit seiner Ansicht, daß der Achsenstab vom

Kern ausgehe) und beruft sich hierbei auf die obige Darstellung von v. Prowazek, mit Unrecht, denn dieser lehnt eine solche Auffassung eben ausdrücklich ab.

Auch v. Prowazek nimmt an, daß die alten Geißeln erhalten bleiben, indem sich nach Teilung des oder der Basalkörper die neuen Geißeln hinzubilden.

Einige der bei Trichomastix gesehenen Teilungsstadien sind von beiden Autoren auch bei Trichomonaden gesehen worden.

v. Prowazek nimmt für *Trichomonas lacertae* an, daß die Teilung wie bei Trichomastix verlaufe, daß aber daneben noch eine Dreifachteilung vorkomme, deren Endstadium er bei einem lebenden Exemplar beobachten konnte. Betreffs der undulierenden Membran bemerkt Dobell für *Trichomonas batrachorum*, daß sie sich längs spalte, während ihre chromatische Basalfibrille sich niemals spalte, sondern resorbiert und in jedem Individuum neugebildet werde. Auch Dobell hat übrigens bei *Trichomastix sepentis* an einem lebenden Individuum eine Dreiteilung beobachtet. Zurzeit ist hinsichtlich der Teilungsvorgänge zu sagen, daß eine endgültige Entscheidung nach dem bisherigen Stande der Forschung noch nicht gefallen ist und daß die feineren Vorgänge, die sich in den bisherigen Arbeiten hinter den sehr einfach klingenden Worten „es teilt sich", „es spaltet sich" verbergen, erst geklärt sein müssen, bevor Fragen erledigt werden können, wie diejenige, ob man bei diesen Parasiten von einer echten Doppelkernigkeit sprechen könne oder nicht. Auf Grund von Untersuchungen an verwandten Familien spricht sich Hartmann hier vorläufig in negativem Sinne aus.

Cysten.

Merkwürdigerweise hat Dobell die von v. Prowazek, demselben und Bohne, v. Ucke und Bensen beschriebenen Cystenformen, in denen nach den genannten Autoren eine Autogamie verläuft, Cysten, die andere Untersucher und ich selbst bei jedem Falle von Trichomonas beim Menschen gesehen haben, in seinem Material nicht gesehen, ebensowenig hat er heterogame Copulationsvorgänge beobachtet und schließt daher, daß vorläufig die Frage der Conjugation für Trichomonas und Trichomastix noch undemonstriert sei. Er selbst hingegen beschreibt Cystenformen, welche, obwohl von anderen Beobachtern nicht gesehen, zweifellos in den Entwicklungskreis dieser Parasiten hinein gehören und daher hier gleich vorläufige Erledigung finden müssen. Mit Conjugationsvorgängen hat diese Encystierung nach Dobell nichts zu tun, er vermag auch nicht anzugeben, welche Gründe dazu führen, daß der gewöhnliche Fortpflanzungsverlauf durch Teilung auf gewisse Zeit durch eine Encystierung unterbrochen wird. Sämtliche Versuche, durch Herstellung aller möglichen physikalischen und chemischen Bedingungen eine Ursache der Encystierung festzustellen, sind fehlgeschlagen, trotzdem man doch annehmen sollte, daß es sich hier um Dauercysten handelt, welche geeignet sind, dem Parasiten über ungünstige Lebensphasen hinwegzuhelfen. Zu verkennen ist übrigens nicht, daß die Cysten Dobell's eine gewisse Ähnlichkeit mit den später zu besprechenden von Bensen beschriebenen Cysten von *Trichomonas vaginalis* und mit den Cysten der *Lamblia intestinalis* zeigen.

Dem Vorgang der Encystierung gehen Veränderungen der vegetativen Form voraus, in erster Linie am Kern, welcher an Stelle feiner verteilter Chromatinbrocken (übrigens ein Befund der nicht allen Phasen der vegetativen Form eignet) ein deutliches, kompaktes Caryosom und einen dicken chromatischen Belag der Kernmembran erhält.

Gleichzeitig soll eine feine fadenartige Verbindung zwischen vorderem Kernpol durch das Caryosom hindurch zum hinteren Kernpol zu beobachten sein.

In einem relativ sehr langen Zeitraum, so lang, daß das an ein und demselben Objekt nicht beobachtet werden kann, beginnt das Tier sich abzurunden, etwas zu verkleinern und eine Cystenmembran auszuscheiden. Mit dem allmählichen Verschwinden

des Achsenstabes von hinten nach vorn, welches nun beginnt, nimmt die Abrundung des Tieres ungehinderten Fortgang, worauf dann unter Zugrundegehen der Geißeln die Bewegungen aufhören. In diesem Stadium persistieren also nur noch die Basalkörner, die sich dem Kern nahe anlegen und ein kleiner Rest des Achsenstabes. Die Zelle verkleinert sich weiter und die zunächst weiche Cystenmembran wird fester und dicker. Der Achsenstab verschwindet schließlich vollständig, während der Kern sich in eigenartig spindeliger Form in die Länge streckt, so daß er mitunter fast von dem einen Ende der Cyste zum anderen reicht. An dieser Dehnung nimmt das Caryosom teil, welches stets in Verbindung mit der Zellmembran bleibt (durch die obenerwähnten feinen Fädchen). DOBELL nimmt an, daß diese Cysten, welche in dieser Form wochenlang verharren, als Überträger bei Neuinfektionen in Frage kommen. Versuche in dieser Richtung, die Cysten in Digestionsflüssigkeiten zur Entwicklung zu bringen, sind fehlgeschlagen. Die Größe seiner Cysten hat DOBELL auf 4—7 μ : 4—6 μ bestimmt.

Um hiervon ganz verschiedene Gebilde handelt es sich bei denjenigen Cysten, welche v. PROWAZEK zuerst bei *Trichomastix lacertae* im lebenden und gefärbten Präparat beobachtet hat und an denen er auf eine Autogamie hindeutende Befunde erhoben hat, die nun schon von mehreren Autoren für Trichomastix und Trichomonas ganz oder zum Teil bestätigt worden sind.

Es ist allerdings zuzugeben, daß diese Cysten nach ihrer variablen Größe und Form zunächst bei der ersten Beobachtung durchaus nicht den Eindruck machen, als ob sie in den Entwicklungskreis von Trichomastix oder Trichomonas hineingehörten. Hinzukommt, daß die ersten und letzten Vorgänge des ganzen Entwicklungsganges noch nicht recht ausreichend beobachtet sind; weder über die ersten Phasen der Encystierung, noch über die Sprengung der Cyste und das Freiwerden der jungen Individuen liegen hinreichende Angaben vor; immerhin kann kein Zweifel bestehen, daß diese regelmäßig gefundenen Cysten in den Entwicklungskreis dieser Organismen hineingehören.

Am lebenden Individuum hat v. PROWAZEK bei *Trichomastix lacertae* beobachtet, wie sich unter Abrundung der Form, Verlust des Achsenstabes und der Geißeln eine Cyste mit zarter gallertiger Membran bildet, welcher die Reste der Geißeln mitunter noch angelagert sind. Aus einer Anzahl kleiner lichtbrechender Granulationen fließt in der Cyste sehr bald ein mächtiger centraler Körper zusammen, welcher als Reservestoffballen angesprochen wird und vielleicht aus einer glykogenartigen Substanz besteht. Er färbt sich mit Jodjodkalium weinrot bis braunrot und verliert diese Färbung beim Erhitzen. Im GIEMSA-Präparat hebt er sich mit seiner hellgrünen Farbe deutlich von dem eosinfarbenen Rest der Cyste ab. Von seiner Größe hängt die Größe der Cyste ab, welche infolgedessen sehr variiert. Inzwischen ist der Kern, der vorher einen deutlichen Innenkörper ausgebildet hatte, durch eine einfache Amitose in zwei Kerne geteilt worden, welche an dem Reservestoffballen vorbei an entgegengesetzte Pole der Cyste wandern, um sich nun auf die Autogamie vorzubereiten, indem sie nacheinander zwei Richtungskörper ausstoßen. Die reduzierten Kerne beginnen alsdann sich zu nähern, während die Richtungskörperchen zugrunde gehen, sobald die Kerne sich bis zur Berührung genähert haben. Nachdem nun die beiden Kerne zu einem Synkarion sich verschmolzen haben, kann die Autogamie einen sehr verschiedenen Verlauf nehmen, entweder kann sich unter Ausstoßung des Reservestoffballens aus der Cyste eine einzige junge Trichomastix bilden oder es kann nach Ausstoßung des Reservestoffballens eine zweite Encystierung in der alten Hülle erfolgen, oder es kann unter allmählichem Zerfall des Reservestoffballens in der Cyste eine Mehrzahl junger Individuen gebildet werden oder schließlich, es teilt sich der Frischkern amitotisch in 4 Chromatinmassen, welche sich einer neuen dichten um den zusammengezogenen Zelleib gebildeten Zellmembran anlegen. Diese Form spricht v. PROWAZEK als die eigentliche Dauercyste an.

Für *Trichomonas intestinalis* scheinen nach den bisherigen Beobachtungen die Vorgänge zwar ähnlich aber doch in einigen Punkten anders zu verlaufen. Maßgebend ist hier in erster Linie die neueste Arbeit von Bensen über *Trichomonas intestinalis* des Menschen.

Bensen hat hier die Angabe Schaudinns, daß vor der Encystierung eine amöboide Form entsteht, bestätigen können, dagegen die von Schaudinn und v. Prowazek gemachte Beobachtung, daß eine echte Copulation zweier Individuen eintrete, nicht erhoben. Er ist infolgedessen der Ansicht, daß, was wenigstens *Trichomonas intestinalis* des Menschen angeht, die Copulation ein äußerst seltener Vorgang sei, der meist und in der Regel durch die Autogamie ersetzt sei.

Nach Bensen wirft vor der Encystierung die *Trichomonas intestinalis* ihre Geißeln ab, und wird, da Achsenstab und Basalkörner ebenfalls bald eingeschmolzen werden, einer echten Amöbe außerordentlich ähnlich, ist jedoch wesentlich kleiner. In diesem Stadium können noch Teilungen eintreten, indem sich der Kern in Form einer einfachen Mitose teilt. Einige dieser neuen amöboiden Individuen verfallen unter Aufblähung von Plasma und Kern einer Degeneration und für diese degenerierten Formen ist allerdings eine Verwechselung mit echten Amöben, zumal ja Trichomonas so häufig mit diesen vergesellschaftet vorkommt, sehr leicht möglich, jedoch vermeidbar angesichts der degenerierten Struktur des Kerns und des großblasigen gleichmäßig blassen Aussehens des Protoplasmas.

Die nicht degenerierten Amöboidformen scheiden eine Gallerthülle aus und bilden so eine gleichmäßig runde Cyste, in der nun fast genau dieselben Vorgänge sich abspielen, wie sie oben durch v. Prowazek geschildert worden sind. Es soll hier jedoch die Bildung der festen Cystenwand und des Reservestoffballens erst eintreten, nachdem das Auseinanderrücken der beiden Kerne erfolgt ist, was bezüglich der Kernmembran sicher zutrifft, da in diesem Stadium noch eine Teilung der ganzen Cyste erfolgen kann, welche wohl von allen Beobachtern gesehen worden ist. Soweit ich mich erinnere — Literatur hierüber ist mir nicht zur Hand —, hat Werner auf diesem Stadium auch noch eine Mehrfachteilung beobachtet. v. Prowazek hat bei *Trichomonas lacertae* auf diesem Stadium außerdem noch eine knospenartige Abschnürung eines kleineren Cystenindividuums mit vollwertigem Kern gesehen, ein Befund, den ich selbst mehrfach bei *Trichomonas intestinalis* des Menschen erhoben habe.

Bensen gibt bezüglich der feineren Vorgänge bei der Bildung der Reduktionskörper an, daß der Charakter des Reduktionsvorganges als zweimalige Zellteilung mitunter durch balkenartige Aufsplitterung des Chromatins verschleiert werden kann.

Nach persönlichen Beobachtungen an gefärbtem und lebendem Material möchte ich mich der Ansicht v. Prowazek's anschließen, daß eine einwandfreie Beurteilung dieser Vorgänge nur nach Beobachtungen am lebenden Material gewonnen werden kann, da die Schrumpfungsvorgänge an den Cysten und die zerfallenden Reste der Richtungskörper das gefärbte Bild oft verschleiern.

Nachzuholen ist hier noch, daß infolge der verschiedenen Größe des Reservestoffballens die einzelnen Cysten an Größe überaus variabel sind, und diese Variabilität vergrößert sich noch bei der späteren Aufteilung des Synkarions in eine mehr oder minder große Zahl neuer Kerne, während der Reservestoffkörper aufgezehrt wird.

Das angenommene Ausschlüpfen der aus diesen jungen Kernen entstehenden neuen Trichomonaden ist noch nicht beobachtet worden.

Bezüglich der übrigen von v. Prowazek geschilderten Ausgänge der Autogamie liegen für *Trichomonas intestinalis* des Menschen bisher keine Beobachtungen vor.

Trichomonas vaginalis scheint, nach Beobachtungen von Bensen, auch abgesehen von ihrer Größe, 8—18 : 12—30 μ, in einigen Punkten von *Trichomonas intestinalis* abzuweichen.

Die vegetative Form scheint eine weit größere Variabilität ihrer äußeren Form zu besitzen: es kommen runde, längliche, nierenförmige und mitunter ganz deformierte Exemplare vor. Das Plasma ist immer stärker gekörnt. Bezüglich der Basalkörper und des Achsenstabes wären die oben angeführten strittigen Punkte über ihre Beziehung zueinander oder zum Kern noch zu klären, sie scheinen aber im allgemeinen, ebenso wie die undulierende Membran sich der Darmspecies gleich zu verhalten.

Auch hier hat Bensen Amöboidformen und Cysten beobachten können (als erster), er glaubt aber aus mehreren Gründen ihnen genetisch eine andere Reihenfolge zuweisen zu müssen. Da er nämlich in einigen Cystenformen noch Reste der Basalkörner und der vorderen Geißeln, vor allem aber den Achsenstab und die Saumgeißel wohl erhalten fand, nimmt er an, daß die Encystierung hier vom Flagellatenstadium aus erfolgt. Erst in einem späteren Stadium verschwinden die genannten Organe vollständig und es bildet sich eine Cyste der Art wie bei *Trichomonas intestinalis* aus. Genauere Beobachtungen des Verlaufs der Autogamie liegen hier noch nicht vor. Die Amöboidformen unterscheiden sich mit Ausnahme des etwas stärker gekörnten Protoplasmas nicht von den gleichen Formen der anderen Species. Bensen läßt die Frage noch dahingestellt, ob die von ihm angenommene Reihenfolge die richtige sei, oder ob nicht vielleicht die von ihm als erste gedeuteten Cystenstadien die eigentlichen Endstadien sind. Jedenfalls ist auch bei dieser Trichomonas ein Ausschlüpfen eines neuen Individuums aus einer Cyste nicht beobachtet worden.

Klinik.

In der älteren Literatur finden sich eine ganze Reihe von Angaben über zufällige Befunde von eingeißeligen Flagellaten, von Cercomonaden, in der Mundhöhle, im Sputum, in Dejektionen von Cholerakranken und Typhösen, im Urin und einmal in einer Echinococcuscyste. Sowohl die Abbildungen, wie die Beschreibung dieser Parasiten lassen es als ausgeschlossen erscheinen vom Standpunkt der heutigen Forschung zu entscheiden, wo diese Formen einzureihen wären, inwieweit es sich um Verwechslungen mit den in neuerer Zeit häufiger beobachteten Trichomonasformen handelt, oder ob etwa Verwechslungen mit Körperzellen vorliegen. Bei der unter dem Namen *Bodo urinarius* beschriebenen Form handelt es sich sehr wahrscheinlich um in die Harnwege gelangte *Trichomonas vaginalis*, die unter diesen Umständen einen Blasenkatarrh unterhalten kann.

Was die neuere Literatur anlangt, so ist das Vorkommen von Trichomonaden im Darminhalt bei allen möglichen Darmerkrankungen berichtet worden. Für einen großen Teil dieser Fälle scheidet Trichomonas für die Ätiologie dieser Leiden von vornherein aus, weil gleichzeitig Amöben oder bakterielle Krankheitserreger gefunden wurden. Zu berücksichtigen ist weiter, daß es in vielen Fällen gelingt, durch Verabreichung von Laxantien Trichomonaden im Stuhlgang zum Erscheinen zu bringen, ohne daß damit eine Darmerkrankung eingeleitet würde. Ich habe selbst in allerletzter Zeit gelegentlich von wegen Ancylostomiasis eingeleiteten Thymolkuren bei Farbigen eine große Anzahl solcher Fälle einer arteficiellen Trichomonaden-Diarrhöe beobachtet. Berücksichtigt man schließlich, daß bei all den vielen Tieren, bei denen Trichomonaden gefunden werden, durchaus keinerlei pathologisch-anatomische Befunde einer Dysenterie erhoben werden, so muß man sagen, daß die Verfechter einer echten Trichomonadendysenterie es schwer haben dürften, im einzelnen Falle den einwandfreien ätiologischen Beweis zu führen.

Auffällig oft scheint sich allerdings die Trichomonas mit Amoeben zu vergesellschaften und persistiert dann in den Stühlen, auch wenn die Amoeben längst verschwunden sind. Solche Fälle sind natürlich, wenn sie frisch zur Beobachtung

kommen, recht schwer zu deuten. Auch bei Sprue konnten wir sie als Nebenbefund beobachten.

Eine eigentliche Klinik der *Trichomonas intestinalis* existiert also vor der Hand noch nicht, geschweige denn eine pathologische Anatomie. Eine andere Frage ist es, wieweit wir Flagellatenbefunde in den Darmentleerungen diagnostisch zu verwerten haben. Hier ist, wie bei den Befunden von Flagellaten im Mageninhalt und im Munde zu sagen, daß beides auf anormale Verhältnisse hindeutet, und zwar scheinen auch Befunde von Flagellaten im Darminhalt nicht nur auf ein Darmleiden, sondern auch auf eine Magenerkrankung hinweisen zu können.

Da alkalische Reaktion des Mediums ihre Lebensbedingungen hebt, bilden Trichomonaden und die weiterhin zu besprechenden Lamblien einen relativ häufigen Befund bei Carcinom des Magens. Gefunden sind sie im Magensaft, aber auch bei zweifellos gutartiger Achylia gastrica, so daß ein wesentlicher diagnostischer Gewinn aus ihrem Befund nicht herzuleiten ist. Trichomonaden und Lamblien im Mageninhalt sprechen zwar mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit für Carcinom, jedoch mit keiner größeren als der Befund der Anacidität, den jeder Kliniker ohnehin erheben wird.

Die modernen morphologischen Studien über Trichomonas, vor allem auch über die Cysten geben die Möglichkeit in die Hand, exaktere Befunde von bestimmten klinischen Fällen zu erheben, so daß zweifellos im Laufe der Zeit eine Entscheidung über die Bedeutung der Flagellatenbefunde herbeigeführt werden wird.

Lamblia intestinalis.

Die Frage der Pathogenität der *Lamblia intestinalis* wurde angeregt durch ihre Auffindung, allein oder mit Amöben vergesellschaftet, in dysenterischen Darmentleerungen und im Mageninhalt bei chronischen Erkrankungen des Magens, speziell bei Carcinom. Bei letzterem sollte ihrem Vorkommen zwar keine pathologische aber eine wesentliche diagnostische Bedeutung zukommen. Alle Untersucher aber sind sich einig darüber, daß der Parasit auch bei völligem körperlichen Wohlbefinden Bewohner des Darms sein kann und daß sein oder seiner Verwandten Vorhandensein bei Tieren, Kaninchen, Mäusen, Hunden, Schafen, Katzen, Ratten, wo er im Duodenum und im Jejunum häufig angetroffen wird, jedenfalls keine Veranlassung zu Krankheitsprozessen gibt.

Die erste genauer emorphologische Beschreibung des schon 1859 von Lambl bei Kindern mit Schleimdiarrhöe entdeckten Parasiten ist erst 1901 von Metzner erschienen, sie ist in neuester Zeit erheblich durch die eingehenden Arbeiten von Bensen vervollständigt worden, welcher auch Unterscheidungsmerkmale verschiedener Species kennen gelehrt hat und sich über die Fortpflanzungsvorgänge im Sinne der Hartmann-v. Prowazek'schen Anschauungen äußert.

Der Zufallsbefund eines vom Menschen gewonnenen ausgezeichnet färbbaren Materials gab mir Gelegenheit, diese Untersuchungen nachzuprüfen und unsere Kenntnis des Cystenbaus zu erweitern.

Morphologie.

Die Lamblien sind bilateral symmetrisch gebaute Flagellaten mit gedoppelter Anlage sämtlicher Organe, so daß mit Recht Hartmann neuerdings die Ansicht äußert, daß es sich hier um Doppeltiere handele, deren Teilindividuen in ihrem Bau durchaus nach dem einfachen Organisationsprinzip anderer Flagellaten angelegt seien, daß es sich bei ihnen eigentlich nur um zwei verschmolzene Exemplare von Trichomastix handele. Ob bei Teilungsvorgängen Halbformen auftreten können, welche in ihrem Bau

mit den genannten Flagellaten Ähnlichkeiten aufweisen, wird später bei der Frage der Fortpflanzung weiter erörtert werden.

Die Größe der einzelnen Exemplare schwankt, wie ich aus einer Reihe von Fällen feststellen konnte, in ganz erheblichem Umfange; aus Größenunterschieden können Artdifferenzen meiner Ansicht nach nicht hergeleitet werden. Man kann nur sagen, daß die Länge zwischen 10 und 25 μ schwankt.

Ebenso ist das relative Verhältnis von Länge zu Breite sehr schwankend. Jüngere Exemplare sind im allgemeinen schlanker und länger, ältere breit und plump.

Eine relativ abgeplattete Bauchseite mit zwei napfartigen ineinander übergehenden Vertiefungen präsentiert sich in der Aufsicht in birnförmiger Gestalt, während die starkgewölbte halbeirunde Rückenfläche das Tier in der Seitenansicht löffelförmig erscheinen läßt.

Die Wölbung der Rückenfläche nimmt bei älteren Exemplaren zu, in solchem Grade, daß die Rückenpartien über die durch ihren Fibrillen-Apparat gesteifte, flache Bauchseite überzuquellen beginnen, so daß in extremen Fällen die flache Bauchseite wie ein Schild in eine weiche Kugel hinein gedrückt erscheint.

Im Präparat hat man die dorso-ventral abgeplatteten Tiere naturgemäß meist in der Aufsicht vor sich und sieht dann mit großer Klarheit die in der Mitte der schüsselförmigen Vertiefungen des Vorderendes gelagerten beiden symmetrischen Kerne, den Geißel- und Fibrillen-Apparat und ein an der Grenze der vorderen und hinteren Körperhälfte etwas schräg, aber mehr quer gelegenes, eigenartiges Organ von noch unaufgeklärter Bedeutung, welches den jüngsten Stadien fehlt, bei älteren Exemplaren regelmäßig aus zwei bis drei zarten Spangen besteht. Zu dem Fibrillenapparat steht dieses Organ sicher nicht in Beziehung.

Der gesamte Stützapparat steht in gewisser Beziehung zu einem auf jeder Seite schräg nach innen und vorn vom Kern gelegenen Paar von Basalkörnern, welche stets durch einen feinen Rhizoplasten mit dem Caryosom des betreffenden Kerns und untereinander in Verbindung stehen. Die einzige Ausnahme hiervon macht die sehr zarte, bisher nicht beschriebene Randfibrille, die den Hinterkörper seitlich umzieht und ganz besonders deutlich bei den oben erwähnten älteren Exemplaren, deren Rückenmasse überquillt, in der Färbung hervortritt. Man kann allerdings auch annehmen, daß es sich hier um die stärker gefärbte Umschlagstelle des Periplasts an der Grenze von Bauch und Rückenseite handelt, jedoch ist dann nicht einzusehen, warum sich dieser Rand ohne eine besondere Verstärkung gegenüber der überquellenden Masse des Rückenplasmas so konstant erhalten sollte. Die Begrenzung des Peristoms — eigentlich der beiden Peristome — wird durch eine unpaare sehr starke Fibrille gebildet, welche an dem einen äußeren Basalkorn beginnend, das Peristom im Kreise umzieht, um am anderen äußeren Basalkorn zu endigen. Bensen nimmt an, daß der Vorderrand des Peristoms durch die sich überkreuzenden Fibrillen gebildet wird, welche am seitlichen Rande in das vordere Geißelpaar übergehen. Schon nach den noch etwas unvollkommenen Bildern von Metzner kann man sagen, daß diese Annahme irrig ist. Hier, wie auch in den von mir gegebenen Mikrophotogrammen ist der Vorderrand der beiden Peristome deutlich als eine von den vorderen Geißeln unabhängige starke Fibrille kenntlich. Ferner biegt sich dieser Vorderrand bei älteren Exemplaren, wie dies auch schon Metzner abbildet, deutlich ventralwärts ein; ich sehe hierin den Beginn einer Bewegung, welche zu der später zu erwähnenden Aufknäuelung dieser Fibrille in den Cysten führt. Die Täuschung, als ob die vorderen Geißeln selbst den Peristomrand bildeten, entsteht dadurch, daß sie sich meistens in ihrem Verlauf am Körper eng der Peristomfibrille anschmiegen. Da Peristomfibrille und vorderes Geißelpaar in der Cyste später ganz unabhängig voneinander an verschiedenen Stellen der Cyste liegen, können sie nicht identisch sein. Die vorderen Geißeln entspringen von dem äußeren Basalkorn jedes

Paares, welches gleichzeitig das hintere ist, ziehen schräg nach innen und vorn, überkreuzen sich in der Körpermitte, legen sich, wie gesagt, der Peristomfibrille an und werden dann seitlich frei, aber durchaus nicht immer an symmetrischen Stellen, die eine sogar meist etwas weiter nach vorn als die andere, mitunter schon noch fast am Vorderende. Ist schon bei dem Mangel einer engen Beziehung zwischen Peristomfibrille und vorderem Geißelpaar die Anlage eines besonderen Basalkorns an der Stelle, wo sich die Geißel vom Körper löst, unwahrscheinlich, so läßt die verschiedene Lage dieser Ursprungsstelle die Anlage eines solchen Organs zwecklos erscheinen, ganz abgesehen davon, daß man die Bildung dieses äußeren Basalkorns nicht erklären könnte, wenn man annimmt, daß die Basalkörner und Geißeln aus Teilungen eines ursprünglich

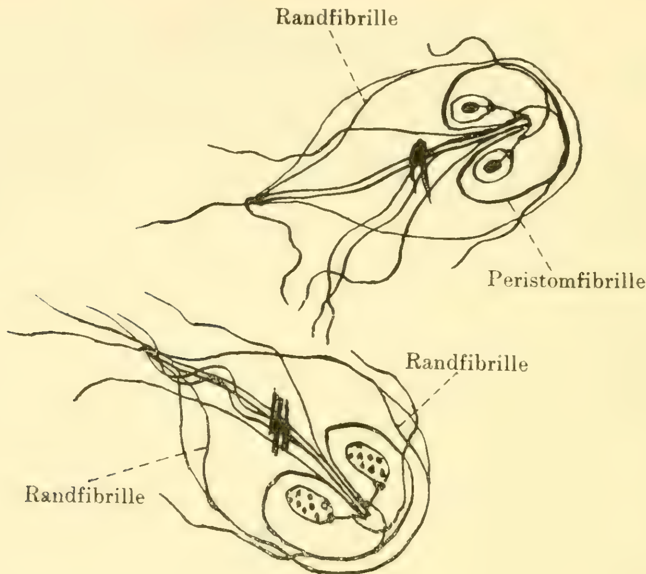


Fig. 3.

vom Kern abstammenden Basalkorns ihren Ursprung nehmen. Es ist mir jedenfalls niemals gelungen, dieses von Bensen beschriebene Basalkorn färberisch darzustellen und ebensowenig habe ich ein Basalkorn an der Stelle darstellen können, wo die zweite Seitengeißel den Körper verläßt. Diese entspringt von dem mittleren und vorderen Basalkorn, lehnt sich, nach hinten und außen ziehend, ebenfalls mitunter zunächst der Peristomfibrille an und zieht dann, wahrscheinlich zunächst mit dem Periplast der Bauchseite verklebt, nach seitlich und hinten und wird an der Grenze des hinteren und mittleren Drittels frei. Auch hier entspringen beide Geißeln nicht immer an symmetrischen Stellen.

Von dem mittleren und vorderen Basalkorn nimmt ferner eine starke Fibrille ihren Ursprung, welche in gerader Richtung von vorn nach hinten zieht und somit zur Hauptstützfibrille, zum Achsenstab, des Körpers wird. Von diesem Achsenstabpaar entspringt beiderseits je eine Schwanzgeißel. Ein Basalkorn ist hier beiderseits so deutlich zu sehen, daß es sich sogar im Mikrophotogramm demonstrieren läßt. Die Anlage eines Basalkorns an dieser Stelle hat wohl eine entwicklungsgeschichtliche Bedeutung; wir finden ein Basalkorn an dieser Stelle bei der von v. Prowazek beschriebenen *Oktomitus intestinalis,* bei der die beiden Endgeißeln von den Achsen-

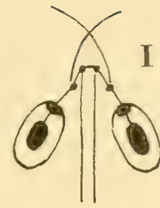
stäben völlig unabhängig sind. Auch in den Abbildungen von *Oktomitus dujardini*, welche DOBELL gibt, sind diese Basalkörner sehr deutlich dargestellt. Die Achsenstäbe zeigen in ihrem vorderen Drittel eine längliche Verdickung; ob hier ein Basalkorn eingelagert ist, läßt sich nicht erkennen, jedenfalls lösen sich von den Achsenstäben in dieser Körperregion die beiden mächtigen Bauchgeißeln ab, welche vor der Bauchfläche schwingend, die eigenartigen schaukelnden Bewegungen der lebenden Tiere verursachen und auch bei der Vorwärtsbewegung eine Rolle zu spielen scheinen. Ihre Insertionsart in der Körpermitte ist, wie gesagt, nicht ganz klar, sie stehen aber sicher in Beziehung zum Achsenstab. Bleibt noch zu erwähnen, daß die beiden vorderen mittleren Basalkörner stets durch eine feine Fibrille miteinander verbunden sind, dem einzigen Organ, welches eine Verbindung der beiden Kerne und der von ihnen abhängigen Fibrillen- und Geißelsysteme darstellt. Nach BENSEN soll diese Verbindungsfibrille bei *Lamblia muris* fehlen.

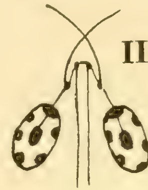
Der oben erwähnte eigenartige unerklärte Körper in der hinteren Hälfte des Parasiten fehlt bei ganz jungen Individuen, erscheint bei etwas älteren als eine kompakte Masse; es sieht dann so aus, als wäre über die sonst so klare Zeichnung des Tieres mit einem Pinsel schräg etwas hingewischt worden. In alten Individuen ist er immer geteilt in mehrere Spangen.

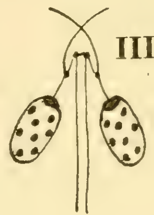
Der Kern ist bei allen Alterstadien von einer sehr deutlichen Kernmembran umgeben und immer von ovaler Gestalt. Die beiden Kernovale liegen stets mit ihren vorderen Polen einander zugeneigt, so, als ob sie durch die zarte Rhizoplastfibrille dem Viererpaar der Basalkörner genähert würden. Dieser Eindruck wird noch dadurcd verstärkt, daß stets, am deutlichsten bei jüngeren Exemplaren sichtbar, in die Wand des vorderen Pols eine große Chromatinmasse eingelagert ist, von welcher eben die Rhizoplastfibrille ihren Ursprung nimmt.

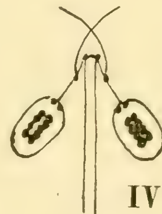
Diese Chromatinmasse ist bei der vegetativen Form immer deutlich darzustellen, in der Cyste nur bis zum Beginn der Kernteilung, bei welcher sie sich isoliert von den übrigen Kernbestandteilen in Form einer primitiven Amitose teilt.

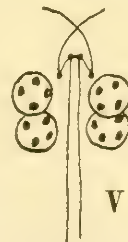
Bei jungen vegetativen Exemplaren steht diese Chromatinmasse ihrerseits durch eine zarte Fibrille mit dem großen kompakten Caryosom in Verbindung, welches umgeben von einer breiten, hellen, achromatischen Zone in der Kernmitte liegt. Diese Fibrille ist nicht mehr nachweisbar, wenn bei älteren Exemplaren die mittlere Chromatinmasse des Caryosoms sich aufzuteilen beginnt. Hier sind noch zwei Stadien zu unterscheiden, das erste, wo immer noch in der Kernmitte eine größere Chromatinmasse lagert und kleinere Chromatinbrocken der Kernmembran anliegen.











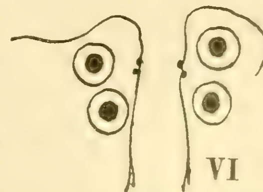


Fig. 4. Kernphasen I—III in der negativen Form, IV—VI in der Cyste beobachtet.

Schließlich sind aber in dem Stadium, in welchem die Encystierung einsetzt, nur gleichmäßig große Chromatinmassen an den Maschen eines feinen Gerüstes im Kern verteilt, nur die vordere Polmasse nimmt noch eine Sonderstellung ein. Mitunter ist bald nach der Encystierung eine Anordnung der Chromatinmassen in zwei Längsreihen zu beobachten. Es scheint also, diese Tatsache mit der obigen der Teilung der vorderen Chromatinmasse zusammengehalten, daß eine Längsteilung des Kerns von vorn nach hinten erfolgt. Genaueres über den Teilungsmechanismus konnte nicht beobachtet werden.

Cysten.

Die bisher gelieferten Cystenabbildungen haben Klarheit über die in den Cysten sich abspielenden Vorgänge nicht zu liefern vermocht und es muß angesichts der Unvollkommenheit der bisherigen Abbildungen als etwas kühn erscheinen, wenn von einigen Autoren schon von der Unterscheidung von Copulations- und Autogamiecysten gesprochen wird. In dem von mir beobachteten Falle waren die Färbungsverhältnisse so ungemein günstige, daß ich eine ziemliche Klarheit über den inneren Bau der Cyste gewinnen konnte. Trotzdem will ich und kann ich, wenn ich nicht auch mich in die Irrwege zweifelhafter Deutung zugunsten einer vorher aufgestellten Theorie verlaufen will, nichts anderes mit Sicherheit sagen, als daß in den von mir gesehenen und abgebildeten Cysten eine Zweiteilung stattfindet. Einige jüngere Stadien dieses Zweiteilungsvorganges gleichen den als Autogamiecysten abgebildeten Beobachtungen verschiedener Autoren, ältere Stadien wiederum den sogenannten Copulationscysten.

Einen Copulationsvorgang, das sei hier vorweg gesagt, hat bisher noch niemand bei lebenden Exemplaren gesehen und auch Stadien beginnender Copulation sind weder bisher beschrieben noch habe ich in meinem Material, welches mir in jedem Gesichtsfeld Dutzende klarer Bilder zur Verfügung stellte, jemals etwas in dieser Richtung zu Deutendes gezeigt. Die öfter zitierte Schaudinn'sche Fußnote bezieht sich wahrscheinlich auf eine s e i t l i c h gesehene Teilungsform, wie sie später besprochen werden wird.

Der Cystenbildung gehen im Körper des Parasiten eine Reihe von Veränderungen voraus. Im gefärbten Präparat ist deutlich ersichtlich, daß sich unter der gewölbten Rückenfläche eine dichte Schicht feiner Körnchen ausscheidet, welche an Größe zuzunehmen scheinen. Um die gleiche Zeit findet die oben erwähnte Volumszunahme der gewölbten Rückenhälfte statt, gegenüber welcher schließlich die platte Bauchseite wie eine kleine birnförmige Scheibe erscheint, in der die Peristomteile immer tiefer eingebogen werden. Es hat den Anschein, als ob die Cyste schließlich dadurch zustande kommt, daß die Rückenpartie sozusagen die Baucdfläche umfließt, wie der Fortsatz einer Amöbe einen Nahrungsbröckel, um alsdann Kugelform anzunehmen, was nur deshalb nicht vollkommen gelingt, weil die Achsenstäbe die Bildung einer ovalen Form erzwingen. Es ist anzunehmen, daß die harte Cystenschale sich aus den oben erwähnten Körnchen bildet; jedenfalls ist in der vollendeten Cyste von ihnen keine Spur mehr zu sehen. Nach innen von dieser harten Schale findet sich in jeder Cyste eine breite helle nicht färbbare Schicht, eine anscheinend weiche Plasmahülle, innerhalb deren die weiterhin näher zu schildernden Größen- und Gestaltsveränderungen ungehindert vor sich gehen können (Fig. 5).

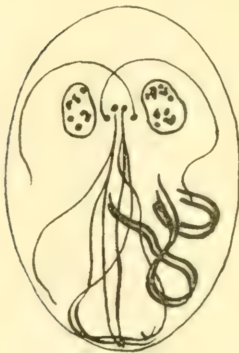


Fig. 5.

In der eben entstandenen jungen Cyste sind zunächst noch deutlich die beiden Kerne und zwischen ihnen die wohlerhaltene Anordnung der Basalkörner mit ihrem Fibrillenapparat zu sehen. Von der Stelle gerückt ist dagegen die starke Randfibrille des Peristoms oder der Peristome, welche sich zu einem dicken Knäuel zusammenschlingt, dessen einzelne Schlingen in der Betrachtung nur eine Ebene der Cyste mitunter als einzelne bogen- oder spangenförmige Körper erscheinen. Diese ganze Knäuelmasse sinkt in der Cyste nach hinten, wenn man bei dem eiförmigen Gebilde vorläufig noch den Pol als den vorderen betrachtet, in dem die beiden Kerne liegen. Nach wie vor ist in diesem Stadium deutlich die Überkreuzung der beiden vorderen Geißeln zu sehen, wenn auch bei der mehr kugeligen Form der Cyste in den verschiedenen Ebenen schwerer zu verfolgen, als in der Aufsicht des freien Exemplars. Die übrigen Geißeln suchen im hinteren Teil der Cyste Platz, indem sie sich der Cystenwand anlegen; mitunter entstehen hier noch mehrfache Überkreuzungen, die diesem hinteren Teil der Cyste eine gewisse Ähnlichkeit mit dem vorderen geben. Der eigenartige Körper aus dem Hinterende des Tieres nimmt eine Längsstellung ein und scheint in zwei lange kompakte Stäbe zu zerfallen. Seine weitere Bedeutung mit Sicherheit zu verfolgen ist mir auch hier nicht gelungen.

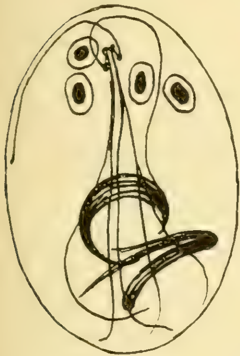


Fig. 6.



Fig. 7.

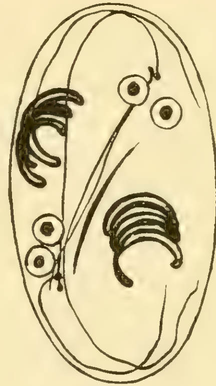


Fig. 8.

Die nächste Veränderung ist an den Kernen ersichtlich, welche sich in die Länge strecken, wobei ihr Chromatin sich in eine größere Anzahl von Chromatinbrocken auflöst, als vorher vorhanden waren; eine Zählung ist mir nicht gelungen. In späteren Stadien sind dann deutlich vier ausgesprochene Caryosomkerne zu finden, mit zarter aber deutlicher Kernmembran, breiter achromatischer Zone und kompaktem mitunter exzentrischem Caryosom, in welchem ein Centriol nicht zu differenzieren war. Sie sind meist rund, mitunter aber auch oval. Unmittelbar nach der Kernteilung nehmen die vier Kerne eine eigenartige Stellung über Kreuz ein. In diesen Stadien des Teilungsprozesses rücken die beiden Basalkörnchen jeder Seite so eng aneinander, daß sie wie ein einziges stärkeres Korn erscheinen. Cysten dieses Stadiums sind die häufigsten, die man findet; die Vorgänge, welche sich in ihnen abspielen, scheinen den längsten Zeitraum der Teilungsvorgänge einzunehmen. Bekommt man die Cyste in diesem Stadium in seitlicher Ansicht im Präparat zu sehen, so läßt sich allerdings an eine Copulationscyste denken, man sieht dann vier Kerne und den gesamten Geißel- und Fibrillenapparat, eng zusammen geschoben, die Cyste in einer gebogenen Linie durchziehen, so daß nicht genau zu erkennen ist, ob es sich um zwei oder nur ein System handelt. In der Aufsicht kann ein solcher Zweifel nicht Platz greifen.

Ziemlich selten findet man als nächstes Stadium Cysten, die ihre Eiform verloren, rund, mitunter fast viereckig geworden sind, ja zuweilen auf einer Seite wie eingeknickt erscheinen. Es sind das die Formen, in denen das Auseinanderrücken der Kernpaare nach entgegengesetzten Polen der Cyste stattfindet, und zwar rückt je ein Kernpaar mit der Hälfte des Geißelapparates von dem anderen fort. Gerade während des Auseinanderrückens entstehen die breiten Formen der Cyste, während dieselbe unmittelbar nach Beendigung dieser Bewegung sofort ihre Eiform wieder einnimmt. In diesen neuen eiförmigen Cysten, in denen je zwei Kerne an jedem Pol liegen, teilen sich nun sofort die zu jedem Kernpaar gehörigen Geißeln und Basalkörner und gleichzeitig spaltet sich der dichte Knäuel, der aus der Peristomfibrille hervorging, in zwei Knäuel, die auseinanderrücken (Fig. 9). Wir haben also in einer solchen Cyste zwei vollkommene Lamblienexemplare vor uns, welche nach Sprengung der Cyste als vollwertige junge Exemplare erscheinen müssen. Einen solchen Vorgang der Sprengung der Cyste und des Freiwerdens zweier junger Exemplare habe ich niemals zu sehen bekommen. Dagegen habe ich ein einzigesmal ein junges Exemplar gesehen, bei welchem die Teilung der drei hinteren Geißeln noch nicht vollendet, und auch nur ein Achsenstab zu sehen war. Ich möchte annehmen, daß diese einzige Form kein normales Individuum war, wie ja auch gelegentlich degenerierte Cysten beobachtet werden, in denen neben Kernresten große Chromatinbröckel liegen und es kann wohl auch vorkommen, daß eine derartige entartete Cyste ein Bild vortäuscht, welches an eine Schizogonie denken läßt.

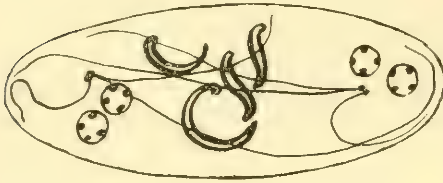


Fig. 9.

Um bezüglich des eigenartigen rätselhaften Körpers im Hinterende der Lamblia wenigstens eine Vermutung zu äußern, der vielleicht von anderer Seite nachgegangen werden kann, sei folgendes erwähnt. Wie gesagt scheinen sich aus dem Körper in der Cyste zwei kompakte längsgestellte Stäbe zu bilden, und diese spielen vielleicht bei dem Auseinanderrücken der beiden Teilungsprodukte zu den entgegengesetzten Polen der Cyste eine richtunggebende Rolle, wenigstens habe ich sie bis zu diesem Stadium nachweisen können, später sind sie verschwunden und treten, wie oben erwähnt, erst wieder in älteren freien Exemplaren auf.

Mit Zeichnung vermittels des Zeichenapparats oder durch Mikrophotogramme lassen sich die geschilderten Vorgänge wegen des erheblichen Dickendurchmessers der Cysten nur unvollkommen zur Darstellung bringen. Es wurden daher hier außer einigen orientierenden Photogrammen nur halbschematische Zeichnungen gegeben, welche von demselben Exemplar bei Durchmusterung der verschiedenen Ebenen freihändig aufgenommen wurden. Auch so gelingt es nicht immer alles Zusammengehörige zu verbinden; so erscheinen die einzelnen Windungen des aus der Peristomfibrille hervorgegangenen Knäuels fast immer als einzelne isolierte Spangen. Da in dem mir vorliegenden Material ungemein viel gutgefärbte Cystenbilder zur Beobachtung zur Verfügung standen, waren Irrtümer, die durch diese Verhältnisse vorgetäuscht wurden, mit ziemlicher Sicherheit auszuschließen.

Nur um dem Einwand zu begegenen, daß bei der Anfertigung der Zeichnungen der Phantasie zu weiter Spielraum gelassen wäre, gebe ich eine Reihe von Mikrophotogrammen dieser für photographische Aufnahme so ungeeigneten Objekte, die naturgemäß nur das Bild einer Ebene geben können; ein Blick auf die verschiedenen Bilder zeigt aber, daß in ihnen dieselben Verhältnisse zum Ausdruck kommen, welche in den Zeichnungen wiedergegeben sind.

Klinik.

Gefunden wurde die *Lamblia intestinalis* von Lambl zum erstenmal in schleimigen Stuhlgängen von Kindern, was an eine pathologische Bedeutung denken ließ. Läßt man die ältere Literatur außer acht, wozu man angesichts der Ergebnisse der modernen Dysenterieforschung durchaus berechtigt ist, so ergibt sich als durchgehende Tatsache, daß in der modernen Literatur das Vorhandensein der *Lamblia intestinalis* in den Darmentleerungen fast immer im Zusammenhang mit Amöben festgestellt wurde oder in Fällen, wo seit Monaten eine Dysenterie bestand, oder weiterhin, daß Lamblien bei Massenuntersuchungen bei Amöbendysenterieepidemien in einer Anzahl von Fällen gefunden wurden.

Gewiß sind Fälle beschrieben, wo eine Dysenterie mit allen klinischen Symptomen einer solchen bestand und wo Lamblien den einzigen Befund bildeten, ich selbst habe zwei solcher Fälle beobachtet, die ich als charakteristisch hier kurz erwähnen will. In dem einen Fall handelte es sich um eine vor vier Monaten in Kalkutta erworbene Dysenterie, welche schon zu schweren sekundären septischen Erscheinungen geführt hatte, im zweiten Fall hatte der Patient in Italien vor zwei Monaten eine Dysenterie akquiriert, die einige Zeit darauf ausheilte, um bald darauf zu rezidivieren. In beiden Fällen wurden ausschließlich Lamblien, aber keine Amöben gefunden; wer aber beweist, daß solche vorher nicht doch vorhanden waren, wo wir doch so oft gerade bei chronischen Formen der Dysenterie die Amöben vermissen, Fälle in denen die Zerstörung der Darmschleimhaut allein die dysenterischen Erscheinungen unterhält? Ein solcher Fall schien der erste zu sein, und im zweiten Fall heilte die Dysenterie aus, der Patient wurde geheilt entlassen, aber seine Lambliacysten hatte er nach wie vor, wenn auch in wesentlich verminderter Zahl. In den beiden von Bohne und v. Prowazek beschriebenen Fällen waren Amöben vorhanden, in dem einen Fall wurden sie allerdings als Coli angesprochen, beide Fälle aber heilten auf eine Medikation mit Simarubarinde, in der wir uns gewöhnt haben, ein Spezifikum für Amöbendysenterie zu sehen. Nach hem augenblicklichen Stande der Literatur ist weder der einwandfreie Beweis erbracht, daß es eine Lambliendysenterie ohne andere ätiologische Momente gibt, es ist auch kein klinisches Krankheitsbild beschrieben worden, welches einen charakteristischen Unterschied gegenüber dem Bilde der Amöbendysenterie geboten hätte. Es muß daher als überflüssig erscheinen, zu rekapitulieren, was an anderer Stelle dieses Werkes mit Berechtigung seinen Platz gefunden hat. Der Praktiker wird sicher keinen Fehler begehen, wenn er in solchen zweifelhaften Dysenteriefällen, wo Lamblien, aber keine Amöben gefunden werden, das bewährte Mazerat der Simarubarinde anwendet.

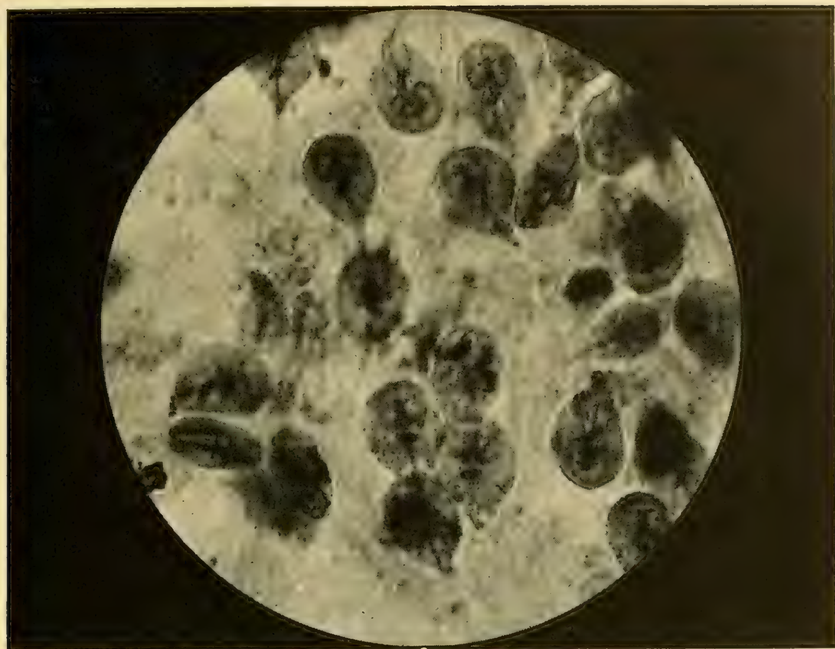
Einem anderen klinischen Gebiet gehört die Frage der Verwertbarkeit des Lamblienbefundes bei gastrischen Erkrankungen an. Die Ergebnisse dieser Beobachtungen sind zuletzt 1908 von Cohnheim in einer umfassenden Übersicht zusammengestellt worden. Über ihre Bedeutung wurde das Nötige bereits unter Trichomonas erwähnt.

Jedenfalls liegt aber bei *Lamblia intestinalis* eine gewisse Wahrscheinlichkeit vor, eine größere als bei *Trichomonas intestinalis*, eine pathogene Bedeutung anzunehmen. Nach den Beobachtungen von Grassi und Schewiakoff heften sich nämlich die Lamblien mit der Höhlung ihrer Peristome an Darmepithelien fest. Es ist durchaus möglich, daß auf diese Weise bei starker Infektion eine Schädigung des Dünndarmepithels verursacht wird. Exakte Untersuchungen, auch von Tieren, liegen in dieser Richtung nicht vor. Jedoch wurde von mir selbst in einem Falle von Dysenterie, bei dem nur Lamblien gefunden wurden, demselben Fall, von welchem die abgebildeten Cysten stammen, auffällig viele kubische Darmepithelien in den Dejektionen des Kranken gefunden.

Literaturverzeichnis.

(Ältere Literatur s. Braun, Die tierischen Parasiten des Menschen.)

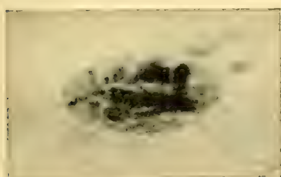
Bensen, Die Darmprotozoen des Menschen. Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. 1908. S. 661 ff.
Derselbe, Bau und Arten der Gattung *Lamblia*. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LXI. 1908. S. 109.
Derselbe, Untersuchungen über *Trichomonas intestinalis* und *vaginalis* des Menschen. Arch. f. Protistenk. Bd. XVIII. S. 116.
Biland, Zur Frage der Pathogenität der Flagellaten. Arch. f. klin. Med. 1905. Bd. LXXXVI.
Blochmann, Bemerkungen über einige Flagellaten. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. XL. 1884. 3. S. 42.
Bohne und v. Prowazek, Zur Frage der Flagellatendysenterie. Arch. f. Protistenk. Bd. XII.
Braun, Die tierischen Parasiten des Menschen. Würzburg 1908.
Cohnheim, Zur klinischen mikroskopischen Diagnose der nichtpylorischen Magenkarzinome. Festschrift Lazarus. 1899.
Derselbe, Über Infusorien im Magen- und Darmkanal des Menschen und ihre klinische Bedeutung. Deutsche med. Wochenschr. 1903. Nr. 12—14.
Derselbe, Infusorien bei gut- und bösartigen Magenleiden nebst Bemerkungen über die sogenannte Infusorienenteritis. Deutsche med. Wochenschr. 1908. Nr. 3.
Dobell, *Trichomonas serpentis* n. sp. Quarterly Journal of Microscop. Science. Vol. LI. Part. 3. 1907.
Derselbe, Researches on the intestinal protozoa of frogs and toads. Ebenda. Vol. LIII. Part. 2. 1909.
Derselbe, *Chromidia* and the binuclearity hypotheses. Ebenda. Vol. LIII. Part. 3. 1909.
Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 1909.
Ellermann, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIV.
Fisch, Untersuchungen über einige Flagellaten und verwandte Organismen. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. 1885.
Grassi und Schewiakoff, Zeitschr. f. Zoologie. Bd. XLVI. S. 143.
Gustalla, Flagellaten im menschl. Darm. Wien. klin. Wochenschr. 1909. Nr. 45.
Hartmann und Chagas, Flagellatenstudien. Memorias do Inst. Osw. Cruz. 1910. Bd. II.
Henning, *Trichomonas hominis* im Mageninhalt des Menschen. Hygiea. 1908. Nr. 3.
Hensen, Über den Befund von Infusorien im Mageninhalt bei Ca. ventr. Arch. f. klin. Med. 1897. Bd. LIX.
Jacksch, Wien. klin. Wochenschr. 1888.
Janowski, Über Flagellaten in den menschlichen Fäces. Zeitschr. f. klin. Med. 1897. Bd. XXXI u. XXXII.
Kannenberg, Über Infusorien im Sputum. Virchow's Arch. 1879. S. 47.
Derselbe, Zeitschr. f. klin. Med. 1880. S. 228.
Klebs, Flagellatenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. 1892.
Koslowski, Zur Lehre von den Infusorien. Arch. f. Verdauungskrankh. 1905. Bd. XI.
Krause, Über Infusorien im Typhusstuhl. Arch. f. klin. Med. 1906. Bd. LXXXVI.
Kuenstler, Observations sur le *Trichomonas intestinalis*. Bull. Sc. France et Belgique. Bd. XXXI. 1898.
Laveran und Mesnil, Sur la morphologie et le systematique des Flagelles à membrane ondulante. Ext. Compt. rend. des Séances de l'Académie. 1901. 15. 7.
Maliniak, Flagellaten im Magen des Menschen. Medycyna. 1903. Nr. 22.
Malmsten, Infusorien als Intestinaltiere. Virchow's Arch. Bd. XXII.
Marchand, Vorkommen von Trichomonas im Harn. Centralbl. f. Bakt. 1894. Bd. XV.
Metzner, Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. LXX. 2.
Moritz und Hölzl, Münch. med. Wochenschr. 1892. Nr. 47.
Nagel, Beobachtung eines Falles von Infusorienenteritis. Münch. med. Wochenschr. 1904. Nr. 44.

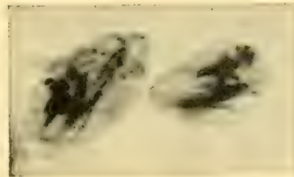

1

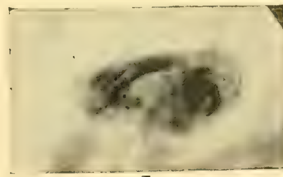

2

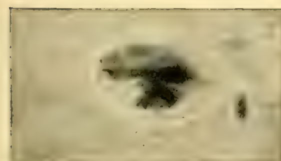

3

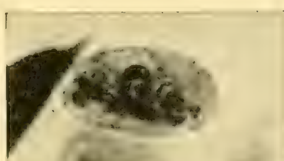

4

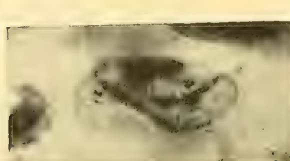

5


6


7


8


9


10

Nichols, Protozoa in the stomach and their diagnostic significance. Americ. Journ. of med. science. 1905. Bd. CXXX.
Oppler, Deutsche med. Wochenschr. 1894. Nr. 32.
Orlowski, Beziehungen zwischen Achylia gastrica und Protozoenenteritis. Wratsch. 1905. Nr. 5 und Przegld lekarski. 1905. Nr. 16 u. 17.
Osler, Principles in practice of med. 1895. S. 1082.
Peroncito, Centralbl. f. Bakt. 1887. S. 739.
v. Prowazek, Notiz über *Trichomonas hominis*. Arch. f. Protistenk. 1902. Bd. I.
Derselbe, Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. 1903. Bd. 2.
Derselbe, Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 1904. Bd. XXI.
Rosenfeld, Über die Bedeutung der Flagellaten im Magen und Darm des Menschen. Deutsche med. Wochenschr. 1904. Nr. 47.
Rosenheim, Colitis gravissima. Deutsche med. Wochenschr. 1908. Nr. 7 u. 8.
Salomon, Berl. klin. Wochenschr. 1899. Nr. 46.
Schaudinn, Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 1903. Bd. XIX.
Schmidt, Wien. med. Wochenschr. 1904. Nr. 48.
Schubeeg, Centralbl. f. Bakt. 1893. Bd. XIV. S. 85.
Strube, Trichomonas im Mageninhalt bei Ca. Berl. klin. Wochenschr. 1898. Nr. 31.
Ucke, Trichomonaden und Megastomen im Menschendarm. Centralbl. f. Bakt. 1907. Bd. XLV.
Ullmann, Deutsche med. Wochenschr. 1902. Nr. 24. Vereinsbeilage.
Wasserthal, Über die Bedeutung der Flagellaten im Stuhl bei Achylia gastr. Arch. f. Verdauungskrankh. 1907. Bd. XIII.
Wenyon, Arch. f. Protistenk. Suppl. 1.
Zabel, Flagellaten im Magen. Wien. klin. Wochenschr. 1904. Nr. 38.
Derselbe, Arch. f. Verdauungskrankh. 1901. Bd. VII.
Zaleski, Fall von Flagellaten im Stuhl. Medycyna. 1906. Nr. 6.
Zweig, Arch. f. Verdauungskrankh. 1908. Bd. XIV.

Tafelerklärung.

Tafel III.

Fig. 1. Lamblien, vegetative Formen mit feiner Körnung, erste Cysten.
„ 2. *Lamblia intestinalis* im Stadium der I. Kernphase.
„ 3. *Lamblia intestinalis*, sämtliche Geißeln deutlich sichtbar.
„ 4. *Lamblia intestinalis* im Stadium der III. Kernphase.
„ 5. Cyste im ersten Stadium in der Aufsicht.
„ 6. Desgleichen.
„ 7. Cyste im ersten Stadium in seitlicher Ansicht.
„ 8. Cyste mit sehr deutlicher Cystenmembran.
„ 9. Cyste, zur Demonstration der spangenartigen Körper, die aus der Peristomfibrille hervorgehen.
„ 10. Cyste nach dem Auseinanderrücken der Kernpaare zu den beiden Polen.

Costia necatrix

(Henneguy).

Von

Dr. **Eugen Neresheimer,** Wien.

Die Gattung *Costia* wurde von Leclerq (1890) von der Gattung *Bodo* abgetrennt, unter die der Entdecker des Parasiten, Henneguy, ihn ursprünglich (1883) eingerechnet hatte. Die Aufstellung der neuen Gattung erfolgte auf Grund der irrtümlichen Angabe Henneguy's, daß das Flagellat drei Geißeln besitze; später wurde durch Moroff (1903) die Zahl vier bestätigt, nachdem schon Weltner (1894) sie festgestellt und auf Grund dessen den Parasiten als *Tetramitus nitschei* bezeichnet hatte.

Die Gattung *Costia* Leclerq ist ausgezeichnet durch einen stark dorsoventral abgeplatteten unsymmetrischen Körper von annähernd ovaler Contur; am Hinterende befindet sich ventral eine muldenartige Vertiefung, die nach vorn zu trichterförmig ausgezogen ist. Am Grunde des Trichters befindet sich die Mundöffnung und die Ursprungsstelle von vier Geißeln, zwei langen und zwei kurzen.

Einzige Art: ***Costia necatrix*** (Henneguy).

Das Tier ist etwa 10—20 μ lang und 5—10 μ breit. Das Vorderende des Körpers ist weniger, das Hinterende stark abgeplattet; durch eine Einwärtsbiegung der Seitenränder entsteht hier die beim Schwimmen deutliche Mulde, die nach vorn links trichterförmig im Plasma ausgezogen ist, so daß das Cystostom nahe dem linken Körperrande vor der Mitte liegt. Hier entspringen die Geißeln, von denen

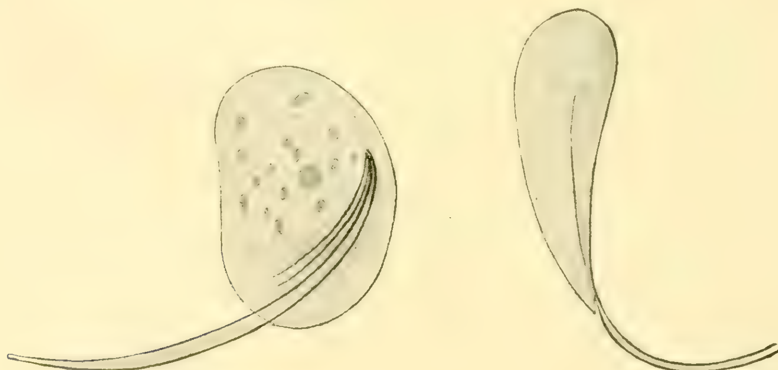


Fig. 1. Fig. 2.

Fig. 1. *Costia necatrix,* von der Bauchfläche. Nach Moroff aus Doflein.

Fig. 2. *Costia,* von der Seite. Nach Moroff sus Doflein.

zwei stark und etwa doppelt so lang als der Körper sind; die zwei feineren sind in die Mundgrube eingebettet und ragen nicht über den Umriß des Körpers hervor. Von der der Mundbucht abgewandten Seite gesehen, sieht das Flagellat, infolge des stärker zusammengedrückten Hinterendes, keilförmig aus. In der Mitte des Körpers liegt der bläschenförmige Zellkern, vor und hinter ihm je eine kontraktile Vakuole. Beim Schwimmen rotiert das Flagellat um seine Längsachse; die langen Geißeln werden dabei ruhig bogenförmig gekrümmt gehalten, während die kurzen allein die Vorwärtsbewegung zu besorgen scheinen; sie sind es auch, die das Herbeistrudeln der Nahrung besorgen. Die Teilung ist eine Längsteilung, wobei sich zeigt, daß die scheinbare Längsachse des Körpers schief zur eigentlichen morphologischen Längsachse steht, so daß die Teilung mehr wie eine Querteilung aussieht. Das morphologische Vorderende ist in der Nähe des Cystostoms zu suchen. Die Kernteilung ist mitotisch. Gewöhnlich wird das Tier nicht freischwimmend, sondern auf Haut und Kiemen verschiedener Süßwasserfische, sowohl Cyprinoiden wie Salmoniden, gefunden, wo es oft massenhaft auftritt. In diesem Falle ist es mit dem löffelförmigen Hinterende dicht an die Fischhaut angepreßt und steht senkrecht in die Höhe, so daß es in der Profilansicht, wie man es meist zu sehen bekommt, birnförmig aussieht. Die Befestigung erfolgt durch die zwei langen Geißeln, die sich dicht an die Epithelzellen anschmiegen. Meist verläßt es diesen Aufenthaltsort, an dem es von dichtem Schleim umhüllt ist, nur gezwungen und stirbt nach etwa einer halben Stunde freien Herumschwimmens im reinen Wasser ab, oder es bildet am Boden liegend eine Cyste, indem es sich abkugelt und einen zentralen, einschlußarmen Teil des Plasmas durch eine starke Membran absondert; das periphere Plasma zerfließt. Die Cyste hat einen Durchmesser von 7—10 μ. Man findet die Cysten auch auf der Fischhaut. Fortpflanzungserscheinungen in der Cyste sind nicht beobachtet, aber zu vermuten.

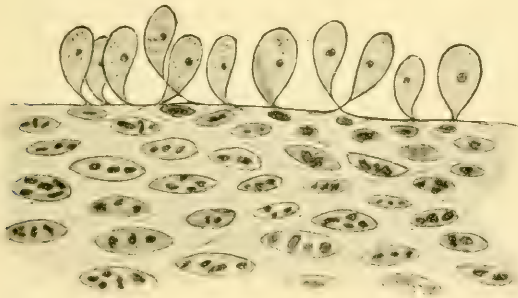


Fig. 3.



Fig. 4.

Fig. 3. Schnitt durch die Haut einer Forelle mit anhängenden Costien. Nach Moroff aus Doflein.

Fig. 4. Cyste von *Costia*. Nach Moroff aus Doflein.

Der Parasit kann durch sein massenhaftes Auftreten häufig große Verluste in Fischzuchtanstalten hervorrufen. Namentlich in engen Räumen, wie Bruttrögen, Brutrinnen usw. ruft er bei Salmonidenbrut durch die starke Infektion der Kiemen in wenigen Tagen Massensterben hervor. Größere Fische widerstehen der Krankheit länger. Das erste Symptom ist eine weißliche Trübung der Oberhaut, die man anfangs nur bemerken kann, wenn man den Fisch im Wasser in der Längsrichtung gegen das Licht ansieht; später fließen die zerstreuten weißen Flecken in eine kontinuierlich die ganze Haut überziehende Färbung zusammen. Die Trübung wird hervorgerufen durch starke Schleimabsonderung und massenhaftes Absterben der

Epithelzellen; von den zerfallenen Zellen lebt der Parasit. Die Fische verlieren im Verlaufe der Krankheit die Freßlust, werden träge und sterben, eventuell erst nach Wochen, ab. In Aquarien, Hältern und Winterteichen tritt die Krankheit öfters verheerend auf.

Zur Vernichtung der Parasiten empfehlen Moroff und Hofer (1904) Bäder in 2—2,5 %iger Kochsalzlösung, die die Fische, einschließlich der Brut, gut ertragen, während die Flagellaten rasch abgetötet werden. Da die Cysten widerstandsfähig sind, muß man die Bäder alle 2—3 Tage, im ganzen 3—4 mal je eine halbe Stunde lang anwenden, um auch die jeweils aus den Cysten ausschlüpfenden Exemplare zu vernichten. Zur endgültigen Vertilgung der Cysten sind dann noch die Aquarien usw. gründlich zu desinfizieren. Neuerdings empfahl Léger (1909) auf Grund eigener Versuche, die von Roth (1910) und Zschiesche (1910) nachgeprüft und bestätigt wurden, Formalinlösung zur Abtötung der Costien. Es kann zu viertelstündigen Bädern eine 0,025 %ige Lösung, d. i. 0,75 ccm des offizinellen, etwa 35 %igen Formalins auf 10 l Wasser, empfohlen werden. Auch diese Bäder sind 1—2 mal zu wiederholen.

Zur Verhütung der Einschleppung empfiehlt es sich vor allem, die Fütterung mit ungekochtem Fleische von Süßwasserfischen streng zu vermeiden.

Literatur zu *Costia necatrix*.

Doflein, F., Die Protozoen als Parasiten unu Krankheitserreger, Jena 1901.

Derselbe, Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 1909.

Henneguy, P., Bodo necator. in: Arch. Zool. exp. et génér. Vol. 2. 1884.

Hofer, B., Die Krankheiten unserer Fische, 5, in: Allg. Fischerei-Zeitg. Vol. 26. 1901.

Hofer, B., Über ein Mittel zur Heilung der Costienkrankheit. ibid. Vol. 28. 1903.

Derselbe, Handbuch der Fischkrankheiten. München 1904.

Leclerq, E., Les microorganismes intermédiaires aux deux règnes. in: Bull. soc. belg. de microsc. Vol. 17. 1890.

Léger, L., La costiase et son traitement. in: Trav. du labor. de pisciculture de l'univ. de Grenoble, Fasc. 2. 1909.

Moroff, Th., Beitrag zur Kenntnis einiger Flagellaten, in: Arch. f. Prot. Vol. 3. 1903.

Nitsche und Weltner, Über einen neuen Hauptparasiten (Tetramitus nitschei) an Goldfischen. in: Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Vol. 16. 1894.

Roth, W., Das Formalin als Vertilgungsmittel für Außenschmarotzer, in: Deutsche Fischerei-Correspondenz. Vol. 14. 1910.

Zschiesche, A., Formalin, ein neues Heilmittel der Costienkrankheit, in: Allg. Fischerei-Zeitg. Vol. 35. 1910.

Derselbe, Ein weiterer Beitrag zur Bekämpfung der Hautschmarotzer der Fische mittels Formalin. ibid. Vol. 35. 1910.

Die Gattung Trypanoplasma

(Laveran und Mesnil).

Von

Dr. **Eugen Neresheimer**, Wien.

Unsere Kenntnis der Gattung *Trypanoplasma* ist noch recht jung, wenn man auch mit Keysselitz (1906) der Vermutung Raum geben mag, daß der Organismus, den Valentin 1841 aus dem Blute der Bachforelle beschrieb, eher ein *Trypanoplasma* als ein *Trypanosoma* gewesen sei. Dagegen spricht allerdings, daß bisher noch kein *Trypanoplasma* unzweifelhaft im Blute eines Salmoniden nachgewiesen wurde.

Die Gattung wurde von Laveran und Mesnil 1901 von der Gattung *Trypanosoma* abgetrennt, auf Grund des Hauptunterschiedes, daß die Parasiten zwei Geißeln statt einer besitzen.

Die heute noch verwendbare Definition Nocht's und Mayer's (1905), in der die frühere Auffassung von Laveran und Mesnil eine Korrektur erfahren hat, lautet: „Flagellaten, seitlich eine undulierende Membran tragend, deren verdickter Rand sich nach hinten in eine Geißel fortsetzt und sich nach vorn umbiegt, um in einer Centrosomamasse zu endigen, die die Stärke, und bis zu einem gewissen Grade, die Struktur eines Kernes hat. Von derselben Masse geht eine vordere, freie Geißel ab. Wahrscheinlich gleichmäßige Längsteilung". Der Schlußsatz lautete: „Parasiten des Fischblutes"; er ist, infolge der Entdeckung weiterer, hierher gehöriger Arten, allgemeiner zu fassen: „Entoparasiten wirbelloser und Wirbeltiere". Inwiefern das in obiger Definition über den Geißelursprung Gesagte näher zu präzisieren ist, wird sich aus dem Folgenden ergeben.

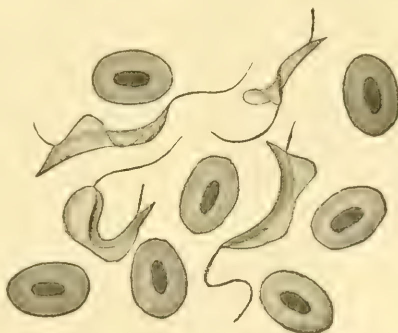


Fig. 1.
Trypanoplasmen im Karpfenblut. Nach Plehn aus Hofer.

Die Trypanoplasmen sind seitlich komprimierte, spindelförmige Flagellaten, an denen wir als dorsale Kante diejenige bezeichnen, an der die undulierende Membran entlang zieht, die freie Kante ist die ventrale. Das Entoplasma, das am Hinterende massiger angehäuft ist, ist fein alveolisiert und enthält stark färbbare Mikrogranula und größere Körnchen in wechselnder Menge. Es ist von dem nach Giemsa sich rötlich färbenden Periplast umschlossen und enthält die zwei Kerne, den Haupt-

kern und den Blepharoplast. Dieser liegt nahe dem Vorderende, der Ventralkante des Körpers angeschmiegt, meist ihm gegenüber, an der Dorsalkante, jedoch seine Stellung unregelmäßig wechselnd, der Hauptkern. Nahe vor dem Blepharoplasten entspringen aus zwei dicht nebeneinander liegenden, stark färbbaren Körnchen (Diplosom), die beiden Geißeln. Die vordere ist eine frei aus dem Körper ragende Peitschengeißel, die hintere zieht zunächst als verdickter Saum | der undulierenden Membran um das Vorderende des Körpers herum und an der dorsalen Kante entlang, um kurz vor dem Hinterende frei zu werden. Die Länge der beiden Geißeln schwankt sehr (bei *T. borelli*); Keysselitz nimmt an, daß der Geißelapparat häufig nach der Menge des Plasmas umreguliert wird. Im Periplast entlang ziehen jederseits vier selten gut zu differenzierende Myoneme, die vom dorsalen Basalkorn entspringen. Außerdem entspringt nach Keysselitz „von der Basis des Diplosoma eine ziemlich starke zentral im Körper verlaufende, vielleicht doppelte Fibrille, die sich nach hinten verliert". Vermutlich ist diese Fibrille identisch mit einer von Léger (1904 b) beschriebenen Bildung. Er sieht an der Oberfläche jederseits eine Fibrille vom Diplosom schräg zur Ventralkante hinüberziehen, wo sich die beiden Fäden vereinigen. Nach Friedrich (1909) geht „wahrscheinlich eine starke Fibrille von dem Blepharoplasten aus und durchzieht den ganzen Körper bis zu seinem hinteren Ende".

Von sonstigen Differenzierungen des Körpers ist für *Tr. borelli* ein kleiner homogener Fortsatz am Vorderende, der mit sehr wechselnder Deutlichkeit auftritt, zu nennen.

Die Kerne sind im Leben gar nicht oder nur schwer sichtbar. Was bisher an gefärbten Präparaten über ihre Struktur ermittelt worden ist, wurde nur durch die verschiedenen Modifikationen der Giemsa- resp. Romanowsky-Färbung am getrockneten Ausstrichpräparat erhalten, und ist daher mit einiger Reserve aufzunehmen. Die Trypanosomen-Studien Rosenbusch's (1909) haben die schon früher von Lühe und anderen ausgesprochene Ansicht neuerdings bestätigt, daß diese Methode dringend der Kontrolle an feucht behandelten Präparaten bedarf. Dies gilt für die sehr sukkulenten Trypanoplasmen sicherlich in noch höherem Maße als für die meisten Trypanosomen. Minchin (1909) betont, daß die Trypanoplasmen durch trockene Behandlung viel stärker deformiert werden als Trypanosomen. Die von Rosenbusch angewandte modifizierte EH-Methode hat die bisherigen Anschauungen über die Kernstruktur der Trypanosomen einigermaßen korrigiert; und es ist abzuwarten, ob auch bei *Trypanoplasma* sich dasselbe herausstellen wird. Meine eigenen Versuche in dieser Richtung sind infolge Mangels an Material noch viel zu spärlich, um hier schon ein Urteil zu gestatten. Die hier ausgesprochene Erwartung wird meines Erachtens auch durch den Umstand nicht tangiert, daß, wie wir noch sehen werden, die Verwandtschaft zwischen *Trypanosoma* und *Trypanoplasma* nicht so nahe und direkt zu sein scheint, wie man bisher anzunehmen geneigt war. Ob die von Minchin angewandte Methode, Fixierung durch Osmiumdämpfe vor dem Trocknen der Ausstriche, und nachherige EH-Färbung, genügen wird, um die Frage zu entscheiden, kann man wohl noch nicht sagen. Jedenfalls hat Minchin nie etwas dem von Rosenbusch für Trypanosomen beschriebenen ähnliches, weder bei dieser Gattung noch bei *Trypanoplasma*, gefunden. Ebenso Martin (siehe weiter unten).

Der Blepharoplast erscheint als längliches, stab- oder keulenförmiges Gebilde, das dicht hinter dem Diplosom gewöhnlich der Ventralkante innig angeschmiegt ist; nicht selten biegt das hintere Ende mehr oder weniger gegen das Innere des Körpers zu ab. Eine Verbindung mit dem Diplosom ist nicht nachgewiesen. An günstigen Präparaten kann man nach Keysselitz bei *T. borelli* acht um einen Binnenkörper gelagerte, runde bis längliche Körnchen (Chromosome??) unterscheiden; meist ist

jedoch Chromatin und Plastin zu einer homogen erscheinenden Masse verklumpt. Einzelne größere oder kleinere Chromatingranula sind öfters zu unterscheiden. Nach den Befunden ROSENBUSCH's scheint mir der Schluß erlaubt, daß auch hier die GIEMSA-Färbung nicht den vollständigen „Blepharoplastkern" zeigt, sondern daß der bisher allein beschriebene Binnenkörper noch von einer Kernsaftzone mit Kernmembran umgeben ist, welch letzterer das Diplosom angelagert sein dürfte. FRIEDRICH glaubte schon bei *T. helicis* bestimmt eine den Blepharoplasten umgeben Kernmembran gesehen zu haben.

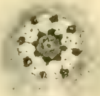


Fig. 2. Kern von *Trypanoplasma borreli*, etwas schematisiert. Nach KEYSSELITZ.

Der Blepharoplast kann nicht selten in mehrere hintereinander liegende Stücke zerfallen sein. Er ist, wie bei den Trypanosomen, meist viel stärker färbbar als der Hauptkern; im Vergleich zu dem Geißelkern dieser Formen ist er unverhältnismäßig groß.

Der Hauptkern besteht, wie bei *Trypanosoma*, aus Kernmembran, Kernsaftzone, die von einem feinen Liningerüst durchzogen ist und kleine Chromatinpartikelchen enthalten kann, und dem Caryosom. (Letzteres soll nach FRIEDRICH bei *T. helicis* fehlen, was aber HARTMANN und JOLLOS (1910) neuerdings bestreiten.) Für manche Stadien von *T. borelli* beschreibt KEYSSELITZ die von SCHAUDINN's Schilderungen her bekannten acht in der Kernsaftzone regelmäßig verteilten Chromosome, ebenso weitere acht distinkte Chromatinbestandteile des Caryosoms und das in diesem enthaltene Centriol. Beim Verschwinden des Caryosoms, das seine färbbare Substanz an die acht Chromatinteile abgibt, entsteht dann das bekannte Bild: acht Chromatinteile, durch einen stark färbbaren Ring verbunden, und von jedem ein radialer Chromatinstab ausgehend, die KEYSSELITZ nach dem Vorgange SCHAUDINN's als Chromosome bezeichnet. Nun bestreitet neuerdings ROSENBUSCH die Richtigkeit der Schilderung SCHAUDINN's für Hämoproteus. Er sagt, die acht Chromatinelemente des Caryosoms seien nicht nachzuweisen, die peripheren Chromatinkomplexe seien in ihrer Anzahl sehr unregelmäßig und nur sehr selten bis acht zu zählen. Hierzu kommt die abweichende Schilderung FRIEDRICH's für *T. helicis*, der zwar ähnliche Bilder beschreibt, jedoch nur fünf durch einen Ring verbundene Chromatinkörner und fünf, sechs oder mehr davon ausgehende Chromatinstäbe beschreibt. Auch stellt er ganz bestimmt in Abrede, daß es sich hier um Chromosome handle (ebenso wie SALVIN-MOORE und BREINL (1907)).

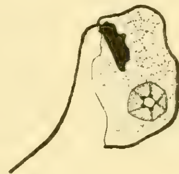


Fig. 3. *Trypanoplasma helicis.* Nach FRIEDRICH.

Auch nach ROSENBUSCH's Beschreibung und Abbildungen der Caryokinese bei Hämoproteus scheint hervorzugehen, daß die Achtzahl der Chromosome nicht nachzuweisen ist. ROSENBUSCH hat den Vorteil der verbesserten Präparationsmethode für sich, und seine Ausführungen finden in den Befunden FRIEDRICH's eine Stütze. Dagegen gesellt sich zu der Autorität SCHAUDINN's mit der Beschreibung und Abbildung von KEYSSELITZ noch eine Schilderung eines so hervorragenden Beobachters wie LÉGER, der gleichfalls (1904 b) bei *Trypanoplasma* eine der von KEYSSELITZ geschilderten Figur ganz analoge Beschreibung für das *Trypanoplasma* der Ellritze gibt. MARTIN, der viele Teilungsstadien seines *T. congeri* gefunden hat, sah nie Chromosomen-ähnliche Bildungen; er beschreibt die Teilungsfigur des Trophonucleus als spindelförmig; eine Centrodesmose verbindet noch lange Zeit die Tochtercaryosome. Er hat die Ausstriche feucht behandelt und mit EH. gefärbt.

Die Frage ist also noch nicht definitiv zu entscheiden. Daß SCHAUDINN bei der schwankenden Anzahl der Chromatinelemente meistens acht gefunden hat und

sich bei ihrer Deutung als Chromosome in einem naheliegenden Irrtum befunden hat, scheint mir persönlich plausibel; ebenso, daß die späteren Beobachter, gestützt auf seine Ansicht, solche Präparate, bei denen die erwartete Zahl nicht zum Vorschein kam, bei der Unsicherheit der Färbungsmethoden für nicht ganz gelungen hielten und sich auf diejenigen verließen, in denen gerade acht derartige Elemente zu zählen waren; denn, wenn sie einmal mit Schaudinn diese Gebilde für Chromosome erklärten, so mußten sie natürlich auch eine konstante Zahl voraussetzen.

Über die Funktion der einzelnen Bewegungsorganellen beim Schwimmen sind sich die Forscher darin einig, daß die eigentliche Fortbewegung durch die Tätigkeit der undulierenden Membran erfolgt. Die Periplastfalte wird nach Keysselitz zunächst breit ausgespannt, erhebt sich bogenförmig in seitlicher Richtung, um dann rasch ventralwärts und nach hinten zu schlagen. Der Körper führt dabei, unter dem Einfluß der Myoneme, beständig etwas spiralige Kontraktionen aus; als Antagonist der Myoneme wirkt die Saumgeißel der undulierenden Membran. Das freie Ende der hinteren Geißel scheint als Steuer zu dienen. Die vordere Geißel ist nach Keysselitz während der Lokomotion nach vorn gerichtet und beschreibt mit ihrem vorderen Drittel eine kegelförmige Rotationslinie. Nach Friedrich ist sie na c hinten geschlagen, ebenso nach Léger, wenigstens beim raschen Schwimmen, er betrachtet sie hauptsächlich als Tastorgan.

Die Fortpflanzung geschieht durch Längsteilung; Teilungsstadien scheinen meistens selten zu sein; nur Martin hat, wie erwähnt, viele Teilungsstadien gefunden, und zwar unter nicht näher bekannten, offenbar nicht gewöhnlichen Bedingungen.

Die Trypanoplasmen bieten ein doppeltes Interesse, ein theoretisches als Gegenstand vielfacher Spekulationen über die Phylogenie der Trypanosomiden, ein praktisches als Krankheitserreger unserer Nutzfische.

Auf den ersten Punkt sei hier nur in möglichster Kürze eingegangen, da seine Erörterung in die Besprechung der Gesamtgruppe der Hämoflagellaten oder besser der Binukleaten überhaupt gehört. In den theoretischen Anschauungen Schaudinn's (1904) über die Ableitung der Trypanosomiden spielte *Trypanoplasma* eine wesentliche Rolle, da es dem von ihm konstruierten „Urhämoflagellaten" besonders nahe stehen sollte. Hierbei stützte er sich aber auf die früher fehlerhafte Beschreibung von Laveran und Mesnil (1901), die erst 1904 durch Léger berichtigt wurde, nach der beide Geißeln einfache Fortsetzungen des Randfadens der undulierenden Membran vorstellen sollte, und ließ einerseits durch Wegfallen einer freien Geißel (auf dem Wege über *Trypanophis grobbeni* Poche, bei der die vordere Geißel sehr reduziert ist, siehe Keysselitz 1904) die Trypanosomen, andererseits durch Knickung des Tieres und Verwachsung von Vorder- und Hinterende die zweigeißeligen Formen wie *Herpetomonas* aus *Trypanoplasma* entstehen. Seit der Aufklärung dieses Irrtums wandte sich das Interesse der Theoretiker, die das Urhämoflagellat zu konstruieren suchten, mehr dem von Perrin genauer studierten *Trypanosoma balbianii* (Certes) zu. Jedoch spielte *Trypanoplasma* immer noch eine Rolle in den Spekulationen, sei es, daß wenigstens ein Teil der Trypanosomen durch Verlust einer Geißel von ihnen abgeleitet wurde, sei es, daß die Trypanoplasmen selbst als Abkömmlinge herpetomonasartiger Formen gedacht wurden, bei denen sich eine Geißel nach rückwärts umgeschlagen haben und mit dem Körper verwachsen sein sollte. Ganz neuerdings scheint sich die Frage jedoch anders zu klären: Hartmann und Jollos führen in plausibler Weise die eigentlichen Trypanosomen sowie *Herpetomonas* auf *Leptomonas* (*Crithidia*)-ähnliche Formen zurück, während sich für die Trypanoplasmen ein anderer Weg zeigt. Unter den freilebenden Flagellaten findet sich eine einzige Form mit einem typischen Blepharoplastkern, *Prowazekia cruzi* Hartmann

und CHAGAS (1910), eine der Gattung *Bodo* nahestehende Art, die in ihrer ganzen Organisation den Trypanoplasmen auffällig ähnlich ist und sich von ihnen nur durch den Besitz einer freien Schleppgeißel unterscheidet; durch deren Verschmelzung mit



Fig. 4.



Fig. 5.

Fig. 4. *Prowazekia cruzi.* Nach HARTMANN und CHAGAS.
Fig. 5. *Trypanoplasma helicis.* Nach HARTMANN und JOLLOS.

dem Körper wäre leicht die Entstehung einer undulierenden Membran und damit einer *Trypanoplasma*-Art vorzustellen, um so mehr, als einerseits *Prowazekia* sich gelegentlich als Cyste im Darm von Wirbeltieren vorfindet und aus den Fäces gezüchtet werden kann, andererseits sich auch echte *Trypanoplasma*-Arten nicht nur im Blut, sondern auch im Darm von Wirbeltieren finden, ebenso wie in den Geschlechtsorganen von *Helix*.

Die bisher bekannt gewordenen Arten der Gattung *Trypanoplasma* sind:

1. *Trypanoplasma borreli* LAVERAN und MESNIL, Typus. Schmarotzer des Blutserums verschiedener Süßwasserfische, namentlich von Cyprinoiden.

[Mit dieser Art werden von den meisten Forschern als synonym vereinigt: *Trypanoplasma cyprini* M. PLEHN, *Tr. varium* LÉGER und *Tr. guernei* BRUMPT, alle ebenfalls Serumschmarotzer bei Cyprinoiden. Weitere ähnliche oder mit *Tr. borreli* identische Arten sind: *T. guerneyorum* MINCHIN, aus dem Blute des Hechtes, *Tr. abramidis* BRUMPT. aus dem Blute des Brachsen, *Tr. Keysselitzi*, aus dem Blute der Schleie.]

2. *Tr. intestinalis* LÉGER, im Ösophagus und Magen des Goldstriemens, *Box salpa* L.

3. *Tr. ventriculi* KEYSSELITZ im Magen und den angrenzenden Darmabschnitten des marinen Fisches *Cyclopterus lumpus* (Norwegen).

4. *Tr. congeri* MARTIN, aus dem Magen des Meeraals, *Leptocephalus conger* (L.).

5. *Tr. helicis* LEIDY, im Receptaculum seminis von *Helix pomatia* und anderen Landpulmonaten.

Trypanoplasma borreli LAVERAN und MESNIL.

Die Größe des Flagellaten schwankt zwischen 12 und 40 μ. Der in der obigen Besprechung der Gattung enthaltenen Beschreibung ist hier nichts Wesentliches hinzuzufügen, zumal die Form in verschiedenen Stadien sehr variable Charaktere aufweist. Ebenso verhält es sich mit den verschiedenen zur Unterscheidung der hier als synonym behandelten Arten angeführten Kennzeichen; so gibt z. B. M. PLEHN als unterscheidende Merkmale die verschiedene Lage des Hauptkernes und die ver-

schiedene Länge der Geißeln, beides, wie wir gesehen haben, höchst inkonstante Charaktere, ähnlich Minchin. Léger stützt sich bei der Aufstellung des *T. varium* auf ähnliche Merkmale; allerdings fügt er eine auffallende Tatsache bei: die mit seinem *T. varium* behafteten Exemplare von *Cobitis barbatula* L. (Schmerlen) befanden sich in der freien Natur vielfach in denselben Gewässern mit *Phoxinus laevis* Ag. (Ellritze), ohne daß die letztere Art sich je infiziert zeigte. Jedoch könnte es sich hier vielleicht nur um eine besondere Rasse von *T. borreli* handeln. Jedenfalls scheint mir die Meinung Keysselitz' begründet, daß bei der Inkonstanz morphologischer Merkmale die Unterscheidung einzelner Arten ohne Feststellung des Entwicklungszyklus zurzeit noch gewagt ist, weshalb ich seinem Beispiele folgend hier die sämtlichen Fischblut bewohnenden Trypanoplasmen als *T. borreli* zusammenfasse. Als Wirte sind bisher bekannt:

Karpfen, *Cyprinus carpio* L.
Schleie, *Tinca vulgaris* Cuv.
Karausche, *Carassius vulgaris* Nils.
Brachsen. *Abramis brama* L.
Barbe, *Barbus fluviatilis* Ag.
Aitl, *Squalius cephalus* L.
Nerfling, *Idus melanotus* Heck.
Rotauge, *Leuciscus rutilus* L.
Rotfeder, *Scardinius erythrophthalmus* L.
Ellritze, *Phoxinus laevis* Ag.
Schmerle, *Cobitis barbatula* L.
Hecht, *Esox lucius* L.
Rutte, *Lota vulgaris* Cuv.
Barsch, *Perca fluviatilis* L.
Kaulbarsch, *Acerina cernua* L.

Vielfach findet sich *Trypanoplasma* im Fischblut vergesellschaftet mit Trypanosomen. Seine Bedeutung als pathogener Organismus ist noch nicht sicher gestellt. Die Deutung der Befunde wird dadurch erschwert, daß der Schwere der dem Einfluß des Parasiten zugeschriebenen Symptome die Menge der im Blute gefundenen Exemplare durchaus nicht immer proportional ist. Sicher scheint mir zu sein, daß mit länger dauernder Infektion eine zunehmende Anämie Hand in Hand geht, (Plehn, Léger, Keysselitz, Hofer), die sehr weit gehen kann. Nach Plehn kann man bei solchen Fischen oft „nur wenige Tropfen eines wässerigen, kaum rötlichen Blutes gewinnen". Nach Keysselitz übertrifft in manchen Fällen die Zahl der Parasiten bei weitem die der Erythrocyten, während die Leukocyten sich stark vermehren. Übereinstimmend wird Blässe der Kiemen und der inneren Organe, besonders von Niere und Leber, beschrieben. Hofer (1904) bringt eine von ihm als Schlaffsucht bezeichnete Krankheit, die in den Jahren 1900 bis 1902 ungeheure Verwüstungen in deutschen Karpfenzüchtereien angerichtet hat, vermutungsweise mit unseren Parasiten im Zusammenhang. Sie äußert sich in Abmagerung und Mattwerden; die Fische liegen vor dem Absterben oft wochenlang auf der Seite, Kopf und Schwanz nach abwärts gebogen. Meine eigenen Erfahrungen sind durchaus geeignet, diese Ansicht zu bestätigen. Im Frühjahr 1909 fand ich in einem ganzen Komplex österreichischer Züchtereien durchaus ähnliche Verhältnisse, enorme Massensterben, namentlich unter den ein- und zweisömmerigen Fischen, traten während und kurz nach der Winterung auf (ähnlich wie in dem von Hofer erwähnten Falle). Bei allen Proben ließ sich sowohl hochgradige Anämie, wie auch das Vorhandensein wechselnder, oft sehr bedeutender Mengen von

Trypanoplasma im Blute nachweisen. Auch fanden sich in a l l e n Fällen reichlich die noch zu besprechenden Fischegel vor. Nach diesen und anderen, in weniger bedeutenden Fällen gesammelten Erfahrungen zweifle ich kaum mehr an dem ätiologischen Zusammenhang zwischen *Trypanoplasma* und Schlaffsucht. Jedoch kann die Trypanoplasmakrankheit offenbar auch ohne die typischen Symptome der Schlaffsucht verlaufen, indem einfach zunehmende Anämie und Schwäche, Unlust zur Bewegung und Nahrungsaufnahme, langsam zum Tode durch Entkräftung führen.

Die eingehendsten Mitteilungen über den Verlauf der Infektion verdanken wir KEYSSELITZ. Für gewöhnlich trifft man nur unerhebliche Mengen des Parasiten im Blute an (Seltenheit der Teilungsstadien); plötzliche starke Vermehrungsperioden (Rezidive) setzen unter verschiedenen Umständen ein und können unter Umständen zum raschen Absterben führen. Über die die Rezidive auslösenden Momente sind nur Vermutungen aufzustellen; es scheint, daß höherer Gehalt des Blutes an Eiweißstoffen die Vermehrung der Flagellaten begrenzt, während plötzliches Sinken des Gehaltes, wie er zum Beispiel nach der Laichzeit, oder kurz nach der Winterruhe infolge erhöhter Beweglichkeit bei Mangel an ausreichender Ernährung und vorhergehendem starken Verbrauch der Reservestoffe eintritt, die Rezidive auslösen. Jedenfalls können auch andere, in demselben Sinne wirkende Faktoren, wie z. B. anderweitige Erkrankung, zu den gleichen Folgen führen.

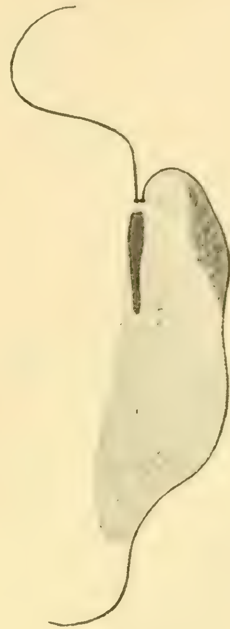


Fig. 6.
Trypanoplasma borreli, indifferentes Stadium aus Karpfenblut.

Bei der Schilderung des Infektionsverlaufes gehe ich von den bei den ersten Rezidiven auftretenden Formen aus. Es sind dies kleine, plasmaarme, lebhaft bewegliche Tiere, die sich häufig mit dem Vorderende an Erythrocyten anheften oder mit der Ventralseite an sie anlegen, ohne aber in sie einzudringen. Der Geißelkern ist stabförmig, oft von nicht ganz gleichmäßiger Dicke; der Hauptkern liegt meist nahe dem Vorderende in der Periplastfalte, kann aber auch mehr nach hinten rücken; das Caryosom ist oft nicht erkennbar. Die Teilung ist noch nicht in allen Details beobachtet; nach KEYSSELITZ ist die Querteilung des Blepharoplasten amitotisch, die Teilung des Hauptkernes mitotisch mit acht Chromosomen. (Ich verweise hier nochmals auf die oben zitierten Ausführungen ROSENBUSCH's, besonders bezüglich der von ihm für Trypanosomen nachgewiesenen caryokinetischen Teilung des Blepharoplastkernes.) Nach der Längsspaltung der Zelle hängen die Tochtertiere noch längere Zeit mit den Hinderenden zusammen. Ein Teilprodukt besitzt beide Geißeln, das andere bildet erst die vordere, erst später auch die hintere Geißel mit undulierender Membran aus. Siehe jedoch weiter unten die Angaben MARTIN's über *Tr. congeri*. Über die feineren Vorgänge, Teilung der Basalkörnchen usw., finden sich keine Angaben.



Fig. 7.
Teilungsstadium von *Trypanoplasma borreli*. Nach KEYSSELITZ.

Aus diesen jungen indifferenten Formen gehen durch Wachstum des hinteren Körperabschnittes etwas anders gestaltete Parasiten hervor, die sich, je nach dem Zustande des Wirtes, verschieden verhalten. Es sind dies die Vorstufen der geschlechtlich differenzierten Formen. Bei wohlgenährten Tieren mit normalem Blut

ähneln sie den vorerwähnten Exemplaren, sind jedoch, besonders am Hinterende, erheblich reicher an Entoplasma und meist auch an Einschlüssen. Der Geißelkern wächst erheblich heran, sein hinteres Ende krümmt sich oft von der ventralen Kante ab ins Innere des Tieres hinein. Der gleichfalls herangewachsene, sonst normal strukturierte Hauptkern legt sich gerne dem Blepharoplasten gegenüber an die Membrangeißel an.

Die in geschwächten und anämischen Fischen, besonders bei sehr starken Rezidiven vorkommenden Stadien weichen etwas von den vorher beschriebenen ab. Auch sie sind plasmareich; ihre undulierende Membran wird breiter und sehr beweglich. Der Geißelkern wird spindel- bis lanzettförmig, die färbbare Substanz lagert sich in ihm in ungleichmäßigen Partien ab; häufig schnürt er an einem oder beiden Enden Teile ab, oder zerfällt selbst gänzlich in mehrere hintereinander liegende Stücke. Der Hauptkern zieht sich stark in die Länge und verliert häufig seine wohlumschriebene Gestalt, so daß er nur noch ein zusammenhängendes Gerüstwerk mit eingelagerten Chromatinkörnchen, eine Art „Chromidialapparat" darstellt, aus dem sich jedoch wieder ein typischer Kern bilden kann. Keysselitz deutet diese Kernformen als Ausdruck lebhafter funktioneller Tätigkeit des Kernes, im Anschluß an die bekannten Theorien R. Hertwig's; auch die Materialabstoßungen von seiten des Geißelkernes hält er für Selbstregulationsvorgänge. Bei schweren Rezidiven, namentlich gegen deren Ende treten jedoch auch weitergehende Erscheinungen auf: der Kern löst sich in eine Anzahl verschieden geformter, aus Plastin und Chromatin bestehender Brocken auf (Chromidien), die sich nicht wieder zu einem regulären Kern restituieren können, sondern als Degenerationserscheinungen zu deuten sind, auf die der Zelltod bald folgen wird.



Fig. 8.
Trypanoplasma borreli, gametenähnliche Form, weiblich, aus Karpfenblut.

Fig. 9.
Trypanoplasma borreli, gametenähnliche Form, männlich, aus Karpfenblut.

Aus den bisher geschilderten größeren Formen gehen die Gameten hervor; jedoch sind alle möglichen Übergänge zwischen ihnen und den indifferenten Stadien vorhanden. Nur die Extreme der verschiedenen Differenzierungen sind sicher zu unterscheiden; die Unterschiede sind viel weniger scharf ausgeprägt als bei den Trypanosomen. Minchin findet dagegen bei *Tr. Keysselitzi* und *Tr. guerneyorum* je eine „gewöhnliche" und eine „große" Form, die sich auch durch die relative Länge der Geißeln und durch die Kernstruktur unterscheiden; sie sollen nicht durch Übergangsformen verbunden sein. Die Gameten sind größer und schwerfälliger als die indifferenten Stadien; das Entoplasma ist zwar am Hinterende noch am reichlichsten angesammelt,

breitet sich jedoch in der ganzen Zelle gleichmäßiger aus und ist reichlicher mit Einschlüssen beladen. Bei den weiblichen Formen ist der Hauptkern groß, der Blepharoplast klein, während umgekehrt die männlichen Individuen sich durch einen relativ großen Geißelkern und kleinen Hauptkern auszeichnen. Die Gameten sind selten unter 24 μ lang; sie erreichen Größen bis zu 40 μ.

Die weitere Entwicklung der Trypanoplasmen ist von einem Wirtswechsel abhängig. In dem zweiten Wirt machen sie, analog wie die Malariaparasiten in der Mücke oder *Trypanosoma lewisi* in der Rattenlaus, ihre geschlechtliche Entwicklung durch, weshalb wir diesen Wirt als den definitiven, das Wirbeltier hingegen, wie in den genannten Fällen, als Zwischenwirt zu bezeichnen haben. Der definitive Wirt von *Trypanoplasma borreli* ist, wie schon früher mehrere Forscher vermutet und Keysselitz 1906 nachgewiesen hat, der Fischegel, *Piscicola geometra* Blainv. Brumpt (1904) und Léger (1905) stellten auch Weiterentwicklung in dem Egel *Hemiclepsis* (Clepsine) *marginata* Müller fest; nach Brumpt soll *Tr. abramidis* sich ausschließlich in *Hemiclepsis* entwickeln können, was er als Artcharakter verwendet; nach Keysselitz scheint auch im medizinischen Blutegel, *Hirudo medicinalis* L., eine Entwicklung möglich zu sein, so daß man vielleicht noch mehrere Vertreter dieser Gruppe als gelegentliche Wirte und Überträger kennen lernen wird. Jedoch wird *Piscicola* als der, namentlich in den Teichwirtschaften, verbreitetste dieser Würmer als der eigentliche und praktisch wichtige Überträger zu betrachten sein. Versuche, auch in zu anderen Tiergruppen gehörigen blutsaugenden Fischparasiten, wie den Fischläusen (Arguliden) Entwicklungsstadien der Trypanoplasmen zu finden, sind bisher negativ geblieben.

Die Gattung *Piscicola* Blainv. wird von verschiedenen Autoren in verschiedene Species eingeteilt, nach anderen gehören sie alle zu der sehr variablen einen Art *P. geometra*. Da die Frage zurzeit noch nicht entschieden werden kann, stelle ich mich auf den letzteren Standpunkt, den auch Hofer und Keysselitz einnehmen. Die Piscicolen gehören zu den Anneliden und unter diesen zu der Unterklasse der Hirudineen; sie besitzen also einen gegliederten Körper, zwei Saugscheiben, eine vordere, vom Munde durchbohrte, und eine hintere, undurchbohrte. Als Vertreter der Ordnung der Rhynchobdelleen oder Rüsselegel besitzen sie ein Stilett am Grunde des Pharynx, das hervorgestoßen wird und die Wunde sticht, aus der der Wurm das Blut der Fische saugt. Das Gerinnen des Blutes wird wie beim medizinischen Blutegel durch das Sekret einzelliger Halsdrüsen verhindert. Der Verdauungstraktus besteht nach Leydig (1849) aus dem Schlund, dem Vormagen, dem von diesem durch einen Sphinkter getrennten, aus zehn eingekerbten Kammern bestehenden Magen, in dem saure Reaktion herrscht, hierauf folgt der wieder durch einen Sphinkter getrennte Darm mit alkalischer Reaktion.

Piscicola geometra ist 2—6 cm lang, schlank, nicht einrollbar, von graugrüner Grundfarbe, fein braun punktiert und durch einen gelblichweißen Längsstreifen auf dem Rücken ausgezeichnet, von dem seitlich regelmäßige ebenso gefärbte Querbinden abgehen. Auf einer Unterlage bewegt sich der Wurm mit Hilfe seiner Saugnäpfe ähnlich wie eine Spannerraupe fort; er schwimmt gewandt mit schlängelnden Körperbewegungen. Die Fischegel pflegen sich an Wasserpflanzen mit anderen Gegenständen fortzusetzen und vorüberstreichende Fische anzufallen. Die Fortpflanzung erfolgt durch Ablage von Cocons an Gegenständen unter Wasser, auch an Fischen; der von einer chitinartigen Hülle umgebene, gelbrote Cocon ent-



Fig. 10.
Piscicola geometra, natürliche Größe. Nach Hofer.

hält eine Eizelle, die von einer Eiweißmasse umhüllt ist. Manchmal treten die Piscicolen in Teichen wie in freien Gewässern in großen Massen auf und vermögen, auch abgesehen von ihren Beziehungen zu den Trypanoplasmen, den Fischen sehr erheblichen Schaden zuzufügen. Die von ihnen zugefügten Wunden scheinen schmerzhaft zu sein und beunruhigen die Fische, auch verheilen sie infolge des Drüsensekretes schwer, gehen leicht in Entzündung über und bieten den Saprolegnien günstige Angriffspunkte. Auch die Blutentziehung kann bei starker Infektion mit Piscicolen ernsthafte Folgen haben. Zurückbleiben der Fische im Wachstum, selbst Absterben kann durch die Würmer verursacht werden.

Um von Fischegeln befallene Fische von ihnen zu befreien, wendet man Bäder in 2½ %iger Kochsalzlösung an, in denen die Würmer betäubt werden und abfallen oder wenigstens leicht abgestreift werden können; sie müssen aber dann noch vollends abgetötet werden. Teiche kann man nur durch Trockenlegen und Behandlung mit Ätzkalk, der auch die gegen Austrocknung widerstandsfähigen Cocons vernichtet, von ihnen befreien.

Die Nahrungsaufnahme erfolgt hauptsächlich im Sommer, ohne aber im Winter völlig zu sistieren. Die Schnelligkeit der Verdauung und damit der Abstand zwischen den einzelnen Saugakten hängt, außer von der Menge des aufgenommenen Blutes, wesentlich von der Temperatur ab. Häufig bleiben die Egel in diesen Pausen auf dem Fische sitzen. Nach Keysselitz vermögen sie Hungerperioden von einem halben Jahre, wahrscheinlich noch weit länger, gut zu überstehen.

Im Magen wird die Nahrung aufbewahrt, die roten Blutkörperchen ihres Hämoglobingehaltes beraubt und durch das verdauende Sekret gelöst; die Resorption der gelösten Nahrung erfolgt im Darm.

Im Magen des Egels gehen die mit Fischblut aufgenommenen indifferenten Stadien nach nicht näher beschriebenen Veränderungen und atypischen Teilungen schließlich zugrunde, während die Gametenformen in den hinteren Magenabschnitten ihre, nach Keysselitz' Vermutung durch den Reiz des Überganges aus einem alkalischen in ein saures Medium verursachte, Entwicklung beginnen. Während Keysselitz keine unzweifelhaften Reifungserscheinungen feststellen konnte, beobachtete Léger (1905) Teilungen von Blepharoplast und Hauptkern, die er für Reifungsteilungen hält. Die Copulation ist eine nicht deutlich ausgesprochene Heterogamie, da sich die Gameten in der oben angegebenen Weise voneinander unterscheiden. Die Gameten können sich mit beliebigen Flächen oder Kanten zusammenlegen, die Copulae runden sich ab und bewegen sich langsam unter Auftreten kleiner amöboider Fortsätze. Die Geißeln gehen allmählich zugrunde. Allmählich nimmt die Copula eine längliche Gestalt an, die an die Ookineten der



Fig. 11.

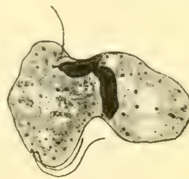


Fig. 12.



Fig. 13.

Fig. 11, 12, 13. Drei Copalationsstadien von *Trypanoplasma borreli*. Nach Keysselitz.

Malariaparasiten erinnert; die ektoplasmatische Schicht ist sehr dünn geworden. Der männliche Blepharoplast sendet einen Chromatinfortsatz zum Weiblichen und bildet so eine Brücke, auf dem seine färbbare Sustanz zum weiblichen Geißelkern geschafft wird, worauf eine innige Durchmischung beider Bestandteile eintritt und das Syncaryon sich abrundet.

Währenddessen quellen die beiden Hauptkerne auf und teilen sich; zwei von den vier Tochterkernen gehen zugrunde, so daß sie wohl als Resultate der von Léger beobachteten Reifungsteilung betrachtet werden können. Über eine zweite Reduktionsteilung ist nichts bekannt. Die beiden übrig bleibenden Kerne bilden sich je zu einer Art Spindel mit je zwei chromatischen Platten aus; sie sind von einem hellen Hof umgeben. Sie verschmelzen miteinander, indem sich die entsprechenden Platten verschiedener Herkunft miteinander vereinigen; es entsteht eine Befruchtungsspindel. In den Platten erscheinen Vierergruppen, deren Zahl nicht festgestellt werden konnte. Die beiden Platten scheinen sich mit den Enden zu vereinigen, so daß ein chromatischer Ring entsteht, dessen färbbare Substanz sich dann auf dem Liningerüst des Syncaryons verteilt. Die Copula bildet sich unter Auftreten zweier Geißeln, deren Entstehungsweise nicht näher verfolgt ist, in ein typisches *Trypanoplasma* um. Die Dauer des ganzen Vorgangs hängt sehr von der Temperatur ab. Nach der Copulation tritt eine starke Vermehrung der Parasiten ein, durch die die Infektion im Fischegel ausgebreitet wird. Auch hier gehen aus den Teilungen drei Formenreihen hervor, deren Extreme als indifferente Stadien, Männchen und Weibchen unterschieden werden können. Die Differenzierung scheint schon in der fertigen Copula vorhanden zu sein.

Die Männchen sind wieder durch die Größe des Blepharoplasten und die Kleinheit des Hauptkernes, die plasmareicheren Weibchen durch die umgekehrten Merkmale ausgezeichnet; die indifferenten Formen halten zwischen beiden die Mitte. Die Männchen, die der Teilung fähig sind, verschwinden doch bald, Keysselitz nimmt auf Grund von ihm beobachteter Abstoßungen von Teilen des Geißelkernes an, daß sie zu indifferenten Formen zurücksinken; andererseits sollen sich die in lebhafter Vermehrung begriffenen indifferenten Formen zu Weibchen oder Männchen ausbilden können. Ein Teil von ihnen geht unter mannigfachen Degenerationserscheinungen zugrunde. Die Tiere werden bei großer Teilungsintensität allmählich kleiner, häufig heften sie sich mit dem Rostrum an der Magenwand fest, nach meinen Beobachtungen besonders reichlich an Epithelfalten, die ins Lumen vorspringen.

Vom Magen aus können sie in den Darm geraten und von hier durch das Epithel in die Gefäße, um mit dem Blutstrom ins Ovar zu gelangen. Keysselitz fand vielfach in den untersuchten Cocons Trypanoplasmen vor, die allerdings nicht in die Eizelle selbst eingedrungen waren, sondern sich in der umgebenden Eiweißmasse aufhalten. Ob die frisch ausgeschlüpften Egel schon infiziert sein können, war nicht festzustellen.

Die im Magen verbliebenen Trypanoplasmen nehmen allmählich alle die typischen weiblichen Merkmale an, werden sehr groß und heften sich auf längere Zeit fest. Geißellose Ruheformen treten nur ausnahmsweise auf. Bei Verflüssigung des Mageninhaltes oder nach neuer Nahrungsaufnahme entstehen durch lebhaftere Teilungen schmale Formen mit stark ausgebildetem Periplast und wenig Entoplasma; die undulierende Membran ist schwach ausgebildet, das Tier nimmt einen spirochätenähnlichen Habitus an und neigt zu Degenerationen. Bei sehr intensiver Vermehrung der Flagellaten können die Fischegel unter charakteristischen Quellungserscheinungen und Verfärbung zugrunde gehen.

Bei den im Egelmagen befindlichen Trypanoplasmen können auch autocopulative Vorgänge auftreten, die den von Schaudinn und Prowazek als „Parthenogenese" bei Trypanosomen beschriebenen Erscheinungen gleichen: nach Reduktionsteilungen wird der Blepharoplast in den Hauptkern einbezogen.



Fig. 14.



Fig. 15.

Fig. 14, 15. Freie und an der Wand festgeheftete Trypanoplasmen im Egelmagen.[1])

---

[1]) Die Photographien sind nach einem Präparat aufgenommen, das ich der Liebenswürdigkeit meines Freundes Dr. Hans Reuss in München verdanke. Die Schnitte durch *Piscicola* waren nicht zum Studium der Trypanoplasmen angefertigt und daher auch nicht entsprechend gefärbt. Bei der Verfertigung der Mikrophotographien hat mir Herr Dr. Miestinger in Wien freundlichst beigestanden. Beiden Herrn sage ich auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank.

Der Infektion der Fische durch Egel gehen nicht die komplizierten Wanderungen des Parasiten im definitiven Wirt voraus, die die Malariaparasiten und *Trypanosoma noctuae* im Mückenkörper ausführen, sondern die rheotropischen Flagellaten steigen bei neuer Nahrungsaufnahme durch den Egel aus dem Magen dem Blutstrom entgegen und gelangen so durch den Rüssel in den Fisch.

Da irgendwelche Maßregeln zur Behandlung der erkrankten Fische naturgemäß nicht zur Verfügung stehen, beschränkt sich die Abwehr der Trypanoplasmakrankheit ausschließlich auf das Ausmerzen infizierter Stämme und die oben genannten Maßregeln zur Bekämpfung der Piscicolen.

Trypanoplasma intestinalis Léger.

Klein, Körper birnförmig mit langem Schwanzanhang. Der Körper mißt 14 μ, die vordere Geißel 16 μ, die hintere Geißel mitsamt dem Schwanzanhang 16 μ. Lebt im Magen und Oesophagus einer Meerbrassenart, *Box salpa* L. im Mittelmeer.

Trypanoplasma ventriculi Keysselitz.

Keysselitz gibt keine Beschreibung dieser Art, sondern erwähnt sie nur in seiner Arbeit über *T. borreli* ganz flüchtig. Aus den beigegebenen Abbildungen ist



Fig. 16.

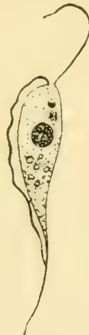


Fig. 17.



Fig. 18.

Fig. 16. *Trypanoplasma borreli*, Spirochäten-ähnliche Form aus dem Egelmagen. Nach Keisselitz.

Fig. 17. *Trypanoplasma intestinalis*, nach Léger aus Doflein.

Fig. 18. *Trypanoplasma ventriculi*, nach Keysselitz.

nur zu ersehen, daß es sich um eine plumpe gedrungene Form mit langen Geißeln handelt. Lebt im Magen des Seehasen, *Cyclopterus lumpus* L. Gefunden in Bergen (Norwegen).

Trypanoplasma congeri Martin.

Der Parasit findet sich in einem vom Magen des Conger ausgehenden langen Blindsack meist in mäßiger Anzahl; in einigen Exemplaren, die lange gehungert hatten, war bei alkalischer Reaktion des Mageninhaltes der Schleim von ungeheuren Massen erfüllt. In anderen Darmabschnitten gehen die Parasiten rasch zugrunde. Martin beschreibt zunächst die vegetativen Formen, besonders die Zweiteilung, da hier zum ersten Male für die Gattung Trypanoplasma sich reichlich Stadien gefunden haben.

Das *Trypanoplasma congeri* ist durchschnittlich 18 μ lang und 2,7 μ breit. Die Organisation bietet nichts Auffälliges. Die beiden Geißeln entspringen gemeinsam von einem einzigen Basalkorn. Der vegetative Kern enthält außer dem Caryosom eine Anzahl kleiner Chromatinkörner in der Kernsaftzone, die aber nicht als die bekannten acht Chromosome angesprochen werden können. Das Cytoplasma enthält oft an der undulierenden Membran entlang eine Reihe schwach färbbarer Granula. Beim Blepharoplasten wird keinerlei Angabe über einen Außenkern gemacht.

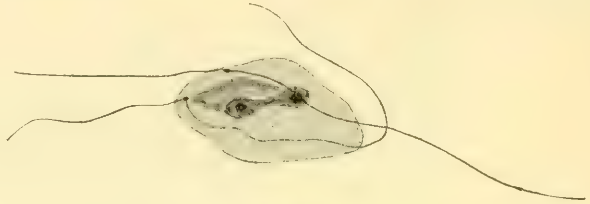


Fig. 20.



Fig. 19.



Fig. 21.

Fig. 19. *Trypanoplasma congeri.* Nach Martin.
Fig. 20 und 21. *Trypanoplasma congeri*, Teilungsstadien. Nach Martin.

Bei der Zellteilung fällt zunächst auf, daß nach einer Teilung des Basalkornes beide Geißeln sich spalten; es erhält also jedes Tochtertier seine Geißeln nebst undulierender Membran gleich mit, weder Einschmelzungen noch Neubildungen von Geißeln werden beobachtet. Vor der Teilung des vegetativen Kerns gehen alle Chromatinteile des Außenkerns in das Caryosom ein, dieses wird zunächst spindelförmig, dann hantelförmig; die neuen Tochtercaryosome hängen noch lange durch eine Fibrille zusammen (Centrodesmose? Centriole werden nicht erwähnt). Chromosomähnliche Bildungen sind nicht festzustellen. Das Caryosom ist ein ,,intracelluläres Teilungscentrum". Der Kinetonucleus streckt sich stark in die Länge und wird quer geteilt. Aus den Figuren und der Beschreibung Martin's ist, wie gesagt, nichts über einen Außenkern des Blepharoplasten zu entnehmen. Es sei dahingestellt, ob der Autor, der Rosenbusch's Arbeit nicht zitiert und offenbar bei Abfassung des Textes nicht kannte, wohl aber feuchte Behandlung der Ausstriche und Färbung mit EH angewandt hat, hier andere Resultate erzielt hätte, wenn er auf Rosenbusch's Arbeit aufmerksam geworden wäre. Die Bilder, die Martin gibt, sehen allerdings durchaus nicht danach aus, als sei hier nur durch mangelhafte Technik eine amitotische Teilung des Blepharoplasten vorgetäuscht.

Die neu entdeckte Form trägt somit keineswegs zu einer Klärung der verschiedenen Fragen bei, die hier noch zu beantworten sind. Die Angaben über das Verhalten der Geißeln bei der Teilung widersprechen diametral dem, was Keysselitz für *Tr.*

borreli angibt. Ebensowenig lassen sich die Angaben über die Teilung der beiden Kerne mit einer der sowieso schon divergierenden Ansichten der übrigen Autoren unter einen Hut bringen. Eine sorgfältige Bearbeitung namentlich der Zweiteilung bei den verschiedenen Trypanoplasmaarten mit modernsten Methoden ist ein dringendes Desiderat.

Trypanoplasma helicis Leidy.

Diese Form wurde zuerst von Leidy (1846) als *Cryptobia,* 1847 *Cryptoicus helicis* aus verschiedenen amerikanischen Pulmonaten beschrieben. Diesing (1850) stellte sie zur Gattung *Bodo.* Friedrich erkannte in seiner mehrfach zitierten Arbeit ihre Zugehörigkeit zur Gattung *Trypanoplasma.* Der Parasit bewohnt das Receptaculum seminis unserer Weinbergschnecke, *Helix pomatia* L., und anderer Pulmonaten. Der Körper ist schlank, meist integralzeichenförmig gebogen, und mißt 15—25 μ. Im hinteren Körperdrittel liegt eine Vakuole. Der stark färbbare Blepharoplast ist langgestreckt und liegt nahe dem Vorderende an der Ventralkante, häufig ist er in mehrere hintereinander liegende Stücke zerfallen. Der Hauptkern liegt meist in der vorderen Körperhälfte; über seine Struktur wurde schon im allgemeinen Teil dieses Abschnittes gesprochen. Die Geißeln entspringen dicht vor dem Blepharoplasten; ihre Basalkörner sind meist nur auf Teilungsstadien zu erkennen. Die vordere, kräftigere Geißel verläuft erst ein kurzes Stück im Körper, bevor sie am Vorderende frei wird. Die undulierende Membran ist schwach ausgebildet; die Saumgeißel ist bis zum hinteren Körperende mit der Periplastfalte verbunden. Das Entoplasma ist am reichlichsten in der Mitte des Körpers.



Fig 22. *Trypanoplasma helicis.* Nach Friedrich.

Die Parasiten finden sich im Receptaculum seminis oft in so großen Massen, daß sie an Zahl die Spermatozoen übertreffen, ebenso in den Spermatophoren. Bei Beginn des Winterschlafes der Schnecke finden sich häufig geißellose Formen, bei denen sich auch der Blepharoplast vollständig rückbilden kann. Es scheint dies ein Ruhestadium während der winterlichen Eindickung des Inhaltes des Receptaculums darzustellen. Der Hauptkern kann im Hochsommer rückgebildet werden; er unterliegt einer Chromidienbildung und verschwindet bis auf geringe Reste, während Blepharoplast und Geißelapparat vollständig erhalten bleiben. Vielleicht handelt es sich hier um männliche Formen. (?)

Bei der Zellteilung kommt Querteilung, häufiger Längsteilung des Blepharoplasten vor. Ich verweise hier nochmals auf die Arbeit Rosenbusch's, der mit seiner feineren Methode die scheinbar amitotische Teilung des Blepharoplastkernes der Trypanosomen als Mitose nachgewiesen hat. Auch die Hauptkernteilung soll nach Friedrich amitotisch verlaufen, was er auf das Fehlen eines Caryosoms zurückführt. Da aber Hartmann und Jollos auch für diese Art ein Caryosom beschreiben und abbilden, scheinen mir Friedrich's Angaben über diesen Punkt noch bestätigungsbedürftig. Auch weisen einzelne seiner Figuren, namentlich seine Fig. 37 und 38, deutlich auf eine Caryokinese hin; was er durch die Annahme eines neben der Amitose vorkommenden komplizierteren Kernteilungsmodus zu erklären sucht.

Geschlechtsvorgänge sind nicht bekannt. Die Uebertragung von Wirt zu Wirt findet direkt bei der Begattung statt; die Spermatophoren enthalten neben den Spermatozoen zahlreiche Parasiten.

Literatur zu Trypanoplasma.

Brumpt, E., Contribution à l'étude de l'évolution des Hémogrégarines et des Trypanosomes, in: C. R. soc. Biol. Jahrg. 1904.

Derselbe, Trypanosomes et Trypanosomoses, in: Revue scientifique. Vol. 9. 1905.

Derselbe, Mode de transmission et évolution des Trypanosomes des poissons. Déscription de quelques espèces de Trypanoplasmes des poissons d'eau douce, in: C. R. soc. biol. Paris. Vol. 60. 1906.

Diesing, C. M., Systema helminthum. Vol. 1. Wien 1850.

Doflein, F., Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena 1901.

Derselbe, Lehrbuch der Protozoenkunde. (II. Aufl. des Vorigen). Jena 1909.

Elmhirst, R. und Martin, C. H., On a Trypanoplasma from the stomach of the conger eel (Conger niger.) in: Zoolog. Anz. Bd 35. 1910.

Friedrich, L., Über Bau und Naturgeschichte des *Trypanoplasma helicis* Leidy, in: Arch. f. Protistenkunde. Vol. 14. 1909.

Hartmann, M., Das System der Protozoen, in: Arch. f. Prot. Vol. 10. 1907.

Hartmann M. und Chagas, C., Flagellatenstudien, in: Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. Vol. 1. 1910.

Hartmann, M. und Jollos, V., Die Flagellatenordnung „*Binucleata*“, in: Arch. f. Prot. Vol. 19. 1910.

Hofer, B., Handbuch der Fischkrankheiten. München 1904.

Kysselitz, G., Über *Trypanophis grobbeni* Poche, in: Arch. f. Prot. V. 3. 1904.

Derselbe, Über flagellate Blutparasiten bei Süßwasserfischen, in: Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Berlin, Jahrg. 1904.

Derselbe, Generations- und Wirtswechsel von *Trypanoplasma borreli* Laveran u. Mesnil, in: Arch. f. Prot. Vol. 7. 1906.

Derselbe, Über die undulierende Membran bei Trypanosomen und Spirochäten, in: Arch. f. Prot. Vol. 10. 1907.

Laveran, A., Trypanoplasmes et Trypanosomes du Vairon, in: C. R. soc. Biol. Jahrg. 1904.

Laveran, A. und Mesnil F., Deux Hémogrégarines nouvelles des poissons, in: C. R. Acad. Sci. Paris. Jahrg. 1901.

Dieselben, Les Trypanosomes des poissons, in: Arch. f. Prot. Vol. 1. 1902.

Dieselben, Trypanosomes et Trypanosomiases, Paris 1904.

Léger, L., Sur la morphologie du Trypanoplasma des vairons, in: C. R. Acad. Sci. Paris. Jahrg. 1904.

Derselbe, Sur la structure et les affinités des Trypanoplasmes, ibid. 1904.

Derselbe, Sur les affinités de l'*Herpetomonas subulata* et la phylogénie des Trypanosomes, in: C. R. soc. Biol. Paris. Jahrg. 1904.

Derselbe, *Trypanoplasma varium* n. sp., in: Annales de l'Université de Grenoble. Vol. 17. 1905.

Derselbe, Sur la présence d'un Trypanoplasma intertinal chez les poissons in: C. R. soc. Biol. Jahrg. 1905.

Leydy, J., Description of a new genus and species of Entozoa, in: Proc. of the Acad. Nat. Sci. of Philadelphia. Vol. 3. 1846.

Derselbe, Description of new genus and species of Entozoa. Cryptobia helicis, in: Journ. of the Acad. Nat. sci. Philadelphia. Vol. 1. 1847.

Leydig, F., Zur Anatomie von *Piscicola geometra* etc. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Vol. 1. 1849.

Lühe, M., Die im Blute schmarotzenden Protozoen und ihre nächsten Verwandten, in: Mense, Handbuch der Tropenkrankheiten. Vol. 3. Leipzig 1906.

Martin, C. H., Observations on Trypanoplasma congeri: Part I, The division of the active form, in: Quarterly journ. of microsc. science. Vol 55, 1910.

Minchin, E. A., Observations on the Flagellates Parasitic in the Blood of Freshwater Fishes, in: Proc. zool. soc. London. Jahrg. 1909.

Nocht und Mayer, Trypanosomen als Krankheitserreger, in: Kolle u. Wassermann, Handbuch der pathog. Mikroorganismen. Vol. 5. 1905.

PERRIN, W. S., Researches upon the life-history of *Trypanosoma balbianii* (CERTES) in: Arch. f. Prot. Vol. 7. 1906.

PLEHN, M., *Trypanoplasma cyprini* n. sp. in: Arch. f. Prot. Vol. 3. 1903

POCHE, F., Ueber zwei neue in Siphonophoren vorkommende Flagellaten etc. in: Arb. a. d. Zool. Inst. Wien. Vol. 14. 1903.

PROWAZEK, S., Die Entwicklung von *Herpetomonas*, in: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Vol. 20. 1904.

Derselbe, Studien über Säugetiertrypanosomen, ibid. Vol. 22. 1905.

ROSENBUSCH, F., Trypanosomenstudien, in: Arch. f. Prot. V. 15. 1905.

SALVIN-MOORE, J. E. und BREINL, A., The cytology of the Trypanosomes, in: Annals of tropical Med. and Paras. Vol. 1. 1907.

SCHAUDINN, F., Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte, ibid. Vol. 20. 1904.

SENN, G., Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse von den flagellaten Blutparasiten. in: Arch. f. Prot. Vol. 1. 1902.

SIEGEL, J., Die geschlechtliche Entwicklung von *Haemogregarina stepanovi* etc., in: Arch. f. Prot. Vol. 2. 1903.

VALENTIN, Ueber ein Entozoon im Blute von *Salmo fario* in: MÜLLER's Archiv. Jahrg. 1841.

WOODCOCK, H. M., The Haemoflagellates and allied forms in: Ray Lankester, A. Treatise on Zoology, London 1909.

Chlamydozoen.

Allgemeines.

Von

S. v. Prowazek und B. Lipschütz.

Unter dem Begriff der „*Chlamydozoa*“ ist der Versuch gemacht worden, eine Gruppe von eigenartigen Mikroorganismen zusammenzufassen, die weder zu den Protozoen noch zu den Bakterien gehören. Auf den häufigst auftretenden und leichter zu untersuchenden Stadien sind sie kleiner als die bisher bekannten Bakterien und passieren bei der Filtration die gewöhnlichen Bakterienfilter. Im Gegensatz zu den Bakterien vollführen sie einen Teil ihrer Entwicklung in dem Cytoplasma, manche sogar in dem Caryoplasma der Zelle selbst und rufen spezifische Reaktionsprodukte und Einschlüsse in der Zelle hervor (Guarnieri'sche, Negri'sche und Molluscum-Epitheliomkörperchen, Mallory's, Bolle's Einschlüsse, Inklusionen der Schleimhauteptheliosen). Sobald sie intracellulär auftreten, sind sie nicht in Phagocytosevakuolen eingeschlossen und man kann sie mit Neutralrot nicht in der typischen roten, dann gelben Farbennuance vital färben, wie die gewöhnlichen phagocytierten organischen Körper. An diesen Einschlüssen sind zum Teil Entwicklungsstadien der Erreger (Variola-Vaccine: Initialkörper, Scharlach desgleichen, Schleimhautepitheliosen: Initial-, Elementar- und Restkörper) selbst, zum Teil aber Reaktionsprodukte der Zelle (Plastin und Chromatin: Variola, Vaccine, Schleimhautepitheliosen: etwas Plastin, beim Epitheliom eine Lipoidfettkomponente) beteiligt. Da die Zellen zunächst fast gar nicht geschädigt werden, ja sich noch normal teilen können, trotzdem ihr Zelleib die spezifischen Inklusionen beherbergt (Variola, Vaccine), auch sonst keine besonders auffälligen Degenerationsstigmata zur Schau tragen (Trachom, Virus myxomatosum, Lyssa usw.), kann man im Sinne der Zelle von einem Stadium der Symbiose reden, das erst später direkt (Vaccine) oder indirekt (Trachom) zu einer eigentlichen Schädigung ausartet. Dieses sind zunächst Eigentümlichkeiten (spezifische Einschlüsse, teilweise intracelluläre Entwicklung), die wir von den Bakterien nicht in dieser Art kennen.

Auf morphologische Unterschiede bezüglich der Teilung — die Chlamydozoen teilen sich mehr hantelförmig, die Bakterien vermehren sich durch eine Spaltteilung — möchten wir kein allzu großes Gewicht legen, da man im Laufe der Forschung vielleicht noch Übergänge finden wird. Durch das Vorhandensein einer Entwicklung (Initialkörper, Elementarkörper, Latenzstadien) weisen diese

Mikroorganismen mehr auf eine Verwandtschaft zu den Protozoen hin, doch kennen wir bei diesen nicht so kleine Formen, noch eine solche Art von Symbiose, die sich in der Produktion von spezifischen Einschlüssen offenbart.

Die Art der Entwicklung ist mangelhaft bekannt; wir wissen bis jetzt nur daß sie einen dimorphen Charakter besitzt. Bei Vario a-Vaccine und den Epitheliosen treten sowohl extracellulär (bei den Schleimhautepitheliosen auch im Schnitt nachgewiesen) als auch intracellulär die Initialkörper auf, die sich durch Teilung vermehren. Später treten die kleineren, filtrierbaren Elementarkörperchen, die bei Variola-Vaccine auch neben den spezifischen Einschlüssen in dem Cytoplasma sichtbar sind. Die Beziehung der sich auch stetig vermehrenden Elementarkörper zu den Initialkörpern, Restgebilden und Einschlüssen ist noch nicht in allen Fällen aufgeklärt. Das Verhalten gewissen cytolytischen Stoffen wie Galle, Saponin, gallensauren Salzen usw. gegenüber weist vielfach mehr auf eine Zugehörigkeit zu den Protozoen hin, während die hohe Tenacität (Austrocknen, Kälte, Sauerstoffbedürfnis) wiederum eine Bakterienverwandtschaft andeutet. Der Wärme gegenüber verhalten sie sich dagegen mehr wie Protozoen. Immerhin sind diese letzteren Unterscheidungsmerkmale nicht für alle Fälle ausschlaggebend und sie besitzen höchstens den Charakter von Indizienbeweisen.

Die Immunität, die diese Mikroorganismen hervorrufen, ist entsprechend ihrem einseitigen, zum Teil hauptsächlich nur auf ein Keimblatt und dessen Derivate beschränktes Vorkommen mehr eine histogene, ja celluläre Immunität, die die Bedeutung der Serumimmunität in den Hintergrund drängt. — Bis jetzt ist es noch nicht gelungen, diese Mikroorganismen zu züchten und ebensowenig wie gewisse Bakterien, z. B. den Leprabacillus, dafür konnten wir aber im Gegensatz zum Lepraerreger zum Teil mit ganz reinen, bakterienfreien, körperchenhaltigen Colloidfiltraten (Variola-Vaccine, Epitheliom) passagenweise im Tierversuch die spezifischen Reaktionserscheinungen hervorrufen. Das freie Vorkommen der Initialkörper, die Vermehrung dieser und der Elementarkörper, die Filtrations- und Impfversuche mit dem körperchenhaltigen Material, die passagenweise Verimpfung, das stetige Hervorrufen der spezifischen Reaktionseinschlüsse, die innige Beziehung der Körperchen zu diesen progressiv sich entwickelnden Inklusionen sprechen dafür, daß hier ein vermehrungsfähiges Virus vorliegt.

Weitere Untersuchungen werden wohl im Laufe der Zeit eine feinere Gruppierung der Chlamydozoen notwendig machen:

Die Chlamydozoen der Variola-Vaccine sowie vielleicht des Scharlachs werden die Cytoryktesgruppe darstellen, im Gegensatz zu den Erregern der reinen chronisch verlaufenden Epitheliosen: der Cytooikongruppe (οἶκος Haus), die nicht so destruktiv wirken und die Zellen zur Proliferation anregen. Am weitesten abzutrennen ist der Erreger der Gelbsucht der Lepidopteren. Alle diese Mikroorganismen erzeugen spezifische Einschlüsse und sind Chlamydozoen im eigentlichen Sinne des Worte

Der von Lipschütz eingeführte Name Strongyloplasmen stellt keinen Gegensatz zu den Chlamydozoen dar. Die Strongyloplasmen umfassen sämtliche mikroskopisch sichtbaren, filtrierbaren Erreger, die in Form kleinster, rundlicher Körperchen auftreten. Hierher gehören daher zunächst die „Elementarkörperchen“ der Variola-Vaccine, des Trachoms, *Molluscum contagiosum* und Geflügelpocke, also die in allergrößter Menge vorkommende Entwicklungsform der Chlamydozoa; ferner rechnet Lipschütz zu den Strongyloplasmen die filtrierbaren und züchtbaren Körperchen der Peripneumonie der Rinder und mög-

licherweise auch die der Geflügelpocke beziehungsweise Geflügeldiphtherie (Bordet). Schließlich soll mit der gewählten Bezeichnung auf das Vorkommen des Virus im Gewebe, ganz unabhängig von den „Einschlüssen", an deren Aufbau es sich übrigens auch beteiligen kann, besonders verwiesen werden.

Die reaktiven Veränderungen des Gewebes auf das Eindringen der symbiotisch mit den Wirtszellen lebenden Erreger sind zwar in der Regel durch Auftreten charakteristischer Einschlüsse gekennzeichnet; sie sind jedoch mit diesen Veränderungen noch nicht erschöpft. Die Reaktionsfähigkeit des erkrankten Gewebes scheint eine viel mannigfaltigere zu sein. Nebst hypertrophischen und neoplastischen Bildungen bei *Molluscum* und *Epithelioma contagiosum* der Vögel, treten auch chronisch entzündliche virushaltige Infiltrate mit Anhäufung von Plasmazellen bei Trachom und Geflügelpocke, degenerative Veränderungen bei der Lyssa, akut entzündliches Exsudat bei der Peripneumonie der Rinder auf. Trotz dieser Polymorphie der klinischen und pathologisch-anatomischen Bilder treten die Einschlußbildung und namentlich die Fähigkeit bakteriendichte Filter zu passieren, immer wieder als gemeinsame wesentliche Kennzeichen dieser noch wenig genau erforschten Gruppe von Mikroorganismen auf.

Vaccine.

Von

S. v. Prowazek.

1. Historisches über die Vaccine.

Die wichtigen Untersuchungen über Vaccine beginnen mit den grundlegenden Forschungen JENNER's, der allerdings in SUTTON, FEWSTER, HEIM u. a. bereits seine Vorgänger besaß. Am 14. Mai 1796 impfte JENNER zuerst von einer gelegentlich erworbenen „Vaccine" der Stallmagd Sarah Nilmes einen 8 jährigen Knaben und vollführte so die erste Impfung mit humanisierter Vaccine erster Generation; die hernach bei selbem Knaben erfolgende Variolation lieferte ein negatives Resultat. JENNER leitete damals die Euterpocke der Kühe allerdings noch von der Pferdemaucke ab. In Deutschland ließ zuerst G. HAMANN seinen Sohn durch MOTHERBURY vaccinieren. Kuhpockenimpfungen führten ferner 1799 BALLHORN und STROMEYER in Hannover aus (EBSTEIN, Deutsche med. Wochenschrift 1909). Die Abstammung der Vaccine ist bis jetzt trotz zahlreicher Untersuchungen noch nicht vollkommen aufgeklärt; während eine deutsche Schule annimmt, daß die Vaccine eine von der menschlichen Variola auf Boviden zufällig oder experimentell übertragene Krankheit ist, kann sich die Mehrzahl der französischen Forscher dieser Annahme, die zum Teil experimentell begründet ist, bis jetzt nicht anschließen. Im ersteren Sinne sprachen sich bereits MAUNOIR, LEROY 1801, WEDEKIND 1802, GENDRIN 1817, GUILLON sowie GASSNER aus. — JACCO, dessen Arbeiten in praktischer und theoretischer Hinsicht grundlegend waren, konnte nicht die Variola auf Kühe übertragen, ebenso negativ war das Ergebnis der Versuche von MÜLLER, WISBACH u. a. Über positive Resultate berichteten MAC PHAIL, THIELE, zum Teil REITER, BADCOCK, CEELY u. a. Zu gänzlich abweichenden Anschauungen gelangten die Mitglieder der Lyoner Kommission: CHAUVEAU, VIENNOIS, MEYNET; auf Grund ihrer Versuche stellten sie die These auf, daß durch die Rinderimpfung die Variola n i e in Vaccine umgebildet wird, sondern Variola bleibt. Demgegenüber konnten VOIGT, FISCHER, HACCIUS und ETERNOD, TREYER, EILERTS DE HAAN, LAYET u. a. experimentell wiederum die Variola in Vaccine „umzüchten". KELSCH erklärte später abermals die Variolavaccine nur als eine Folge von zufälliger Übertragung von Vaccine auf die variolisierten Impfflächen (Stallinfektion), während VOIGT (Deutsche med. Wochenschrift 1909) die Ansicht von einer Umzüchtung der Variola in Vaccine verteidigte.

2. Historisches über die Parasitologie der Vaccine.

An den parasitologischen Untersuchungen der ersten Periode der Vaccineforschung beteiligten sich zunächst CHAUVEAU, VAN DER LOEFF (1886 und 1887) und L. PFEIFFER 1887, 1891), ferner DÖHLE (1892). Die Entdeckung der spezifischen Körperchen der

Vaccine verdanken wir GUARNIERI (1892), der in den Zellen der mit Vaccine geimpften Kaninchencornea charakteristische Veränderungen — die GUARNIERI'schen Körperchen — fand. Diese Gebilde sind in der Folgezeit mehrfach genau untersucht worden, so von PFEIFFER, MONTI (1894), CLARK (1894), GALLI-VALERIO und PIANA (1894), SICHERER (1895), VON WASIELEWSKI (1897 und 1901), SALMON (1897), HÜCKEL (1898), FUNCK (1901), FOA (1903), CASAGRANDI (1903), BOSC (1903 u. f.), BORREL (1903) u. a. In anderer Richtung bewegten sich die Untersuchungen von SIEGEL (1904 und 1905), deren Ergebnisse teilweise noch der Bestätigung harren.

In experimenteller Hinsicht waren ferner wichtig die Ergebnisse der Forschungen von LÖFFLER und FROSCH (1897), CALMETTE und GUÉRIN (1901), FOA (1903), COUNCILMAN, CALKINS und TYZZER (1904), CASAGRANDI (1906), MÜHLENS und HARTMANN (1906), CARINI, PASCHEN (1907 u. f.), ALDERSHOFF und ARNDT. PROWAZEK (1905) beschrieb neben den großen Vaccineeinschlüssen kleinere Initialkörper, die innerhalb der Einschlüsse zum Teil bereits GORINI und BOSC gesehen haben. Er sah zuerst die kleinsten intracellulären Virusstadien (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte 1905 Taf. IX, Fig. 2, 3, 5 und 14). PASCHEN (Münch. med. Wochenschrift 1906) fand „in Ausstrichen von verdünnter Kinderlymphe, die mit GIEMSA gefärbt waren, eine überraschend große Menge von sehr kleinen Körperchen", äußerte sich, aber „über die Natur dieser Körperchen sehr zurückhaltend" (Münch. med. Wochenschr. 1906 und Arch. f. Kinderheilkunde XLVII). CASAGRANDI (Studi sul vaccino Annali d'Igiene sperimentale 1906) schreibt über seine Befunde (S. 156) „nei filtrati di polpa vaccinica si possono mettere in evidenza dei piccolissimi elementi di apparenza detritica, previa fissazione col methodo di RETZMANN, elementi male definibili per forma e grandezza". Die Angaben von CASAGRANDI unterwarf VOLPINO (Il Policlinico Sez. Part. vol. XV, 549—50) einer Kritik. 1906 schilderte PROWAZEK die bereits 1905 abgebildeten Initialkörper genauer sowie einige „Dauerformen" (Arb. aus d. K. Gesundheitsamte 1906). Die kleinsten Körperchen beschrieb VOLPINO (Rivista d'Igiene e di Sanità publica XVIII, 1907 und Accad. d. Medicina di Torino 22./11. 1907) sowohl in den Zellen als auch in den Intercellularen mittels der Dunkelfeldbeleuchtung und betont deren a) außerordentliche Kleinheit und Gleichheit, b) spontane Beweglichkeit, c) reichliches Auftreten auf dem Höhepunkt des pathologischen Prozesses, d) gleichzeitiges Vorkommen in den Zellen und den Interzellularen und hebt PASCHEN gegenüber als Unterschiede die Kleinheit und das charakteristische Auftreten in den Zellen hervor. Die Körperchen sind den von PROWAZEK und ARAGAO bei Variola beschriebenen ähnlich. — TERNI 1909 beschreibt besondere eosinophile Formelemente in der Vaccinepustel, ebenso berichtet LICHERI über kleine Körperchen, die von einem Hof umgeben sind.

Weitere Entwicklungsstadien haben PROWAZEK und YAMAMOTO (Münch. med. Wochenschrift 1909/10) beschrieben und betonten eine intracelluläre Entwicklung des Virus. Um die Erforschung der Immunität der Vaccine haben sich ferner RAYNAUD (1877), POHL-PINCUS (1882), LANDMANN (1894), REMBOLD, BEUMER und PEIPER (1895), CALMETTE und GUÉRIN (1901), SÜPFLE (1905), NOBL (1906), PROWAZEK (1906), JÜRGENS (1906), KRAUS (1906), v. PIRQUET (1907), CASAGRANDI (1903 u. ff.), KNOPFELMACHER (1906), FREYER u. a. m. bemüht. Eine große zusammenfassende Arbeit über alle Virusstudien verdanken wir der Feder von CASAGRANDI (Annali d'igiene sperimentale XX, 1910).

Der Vollständigkeit wegen sei darauf hingewiesen, daß vielleicht CHAUVEAU bereits in den granulations élémentaires zum Teil die Erreger sah; ähnliche Gebilde beobachteten CALMETTE und GUÉRIN: „A l'état frais, on y observe en revanche une multitudine de grains extrêmement petits refringents, mobiles, qui semblent bien être les éléments virulents du vaccin etc."

Es ist ungeme n schwer, ja fast unmöglich, alle die bis jetzt beschriebenen „beweglichen Körperchen", „Proteiden", „Elemente", Amöben", „Sporozoen" usw. nach den gegebenen Beschreibungen miteinander zu vergleichen und es soll daher hier von weiteren historischen Studien über die Parasitologie der Vaccine abgesehen werden. Die wichtigsten Beobachtungen sind in den Arbeiten von Hückel, Wasielewski, Süpfle und Prowazek berücksichtigt worden.

3. Morphologie und Entwicklung des Parasiten.

Träger des Vaccinevirus sind kleinste, im Leben mäßig lichtbrechende Körperchen, die sich mit Löffler's Geißelmethode oder nach Giemsa mit Eosin-Azur färben, Gram negativ sind und Bewegungen ausführen. Volpino faßt diese Bewegungen als spontan auf, mir gelang es bis jetzt nicht mich experimentell und morphologisch von dieser Spontaneität zu überzeugen. Für Untersuchungen während des Lebens eignet sich die Dunkelfeldbeleuchtung. Wie Volpino betont, kommen sie intracellulär und intercellulär vor. Pugliese und Debenedetti (Centralbl. f. Bakt. 1909) nehmen auf Grund von Versuchen an, daß die Gebilde zum größten Teile im Innern der Zellen existieren, während Paschen anscheinend mehr auf eine extracelluläre Lagerung Gewicht legt. In der geimpften Kaninchencornea kann man sie regelmäßig etwa von der fünften Stunde nach der Impfung in steigender Menge durch die Klatschmethode nachweisen. Die Klatschpräparate werden nach Paschen ins Wasser gelegt, in senkrechter Lage getrocknet und nach Löffler's Geißelmethode gefärbt.

Auch die Methode von Giemsa eignet sich mit einigen Modifikationen für ihre Darstellung: Fixierung der Ausstriche mit heißem Sublimatalkohol (⅓ Alkohol 90% + ⅔ konzentriertes Sublimat in Wasser), Wasser, Jodalkohol, Wasser, Giemsa-Färbung (24 Stunden) differenzieren in 60%igem Aceton, Aceton, Xylol, Cedernöl. Die eosinophilen Granulationen werden bei einer längeren Acetondifferenzierung früher entfärbt als die Viruskörperchen.

Die Methode von Levaditi wandte Paschen (Archiv f. Kinderheilkunde XLVII) an und berichtet über seine Befunde folgendermaßen: „Die Levaditi-Methode ergab bei der Kalbspustel und der geimpften Kaninchencornea sehr eigentümliche Befunde. An den Grenzen der Reizzone der Kalbspustel in einer Anhäufung von Lymphe eine ungeheuere Menge kleinster, schwarz gefärbter Körperchen, die ähnliche Verhältnisse zeigten wie bei den Ausstrichen. In den Kaninchencornea fanden sich sehr zahlreiche kleine Körperchen, mit einem Hof umgeben; außerdem den Kern einbuchtend ovale Gebilde mit scharfen Kanten, in der Mitte ein schwarzes Korn und größere, bei denen zentral sechs schwarze Körperchen gezählt werden konnten, um dieselbe eine ungefärbte Zone." Die Körperchen vermehren sich hantelförmig in Diploform.



Fig. 1. Initialkörper und Elementarkörper aus der geimpften Kaninchencornea; bei *a* verschiedene Stadien der Vermehrung der Initialkörper.

Paschen schildert die Vermehrung etwas abweichend: „2. Körperchen, die sich scheinbar in der Mitte spalten, jede Hälfte mit einem fädigen, äußerst feinen Fortsatz, durch den sie am Ende noch verbunden sind. 3. Diese Hälften schlagen auseinander, indem die Fäden noch in einem Punkte verbunden sind. 4. Kleine Körperchen mit eben sichtbarem fädigen Fortsatz" (Münch. med. Wochenschrift 1906).

Referent schlägt vor, diese in großer Menge auftretenden, durch die Bakterienfilter hindurchgehenden kleinsten Körperchen „Elementarkörperchen“ zu nennen. Nach seiner Auffassungs stellen sie ein Endstadium der Virusentwicklung dar. VOLPINO beobachtete ihre Bewegungen innerhalb der Zellen und konnte sie durch spezifisches Serum immobilisieren. Innerhalb der Zellen werden sie von größeren Initialkörpern als von einem Entwicklungsstadium der Vaccine abgelöst, die zuweilen von einem hellen Hof, der durch 2%ige Kochsalzlösungen noch verdeutlicht wird, umgeben sind (Fig. 1 und 2). Sie färben sich mit Eisenhämatoxylin schwarz, Saffranin rot, Dahlia und Gentianaviolett violett. Die Initialkörper nehmen manchesmal fast rechteckige Umrisse an und schnüren sich hantelförmig durch (Zerdehnung). (Arbeiten a. d. K. Gesundheitsamt 1905).

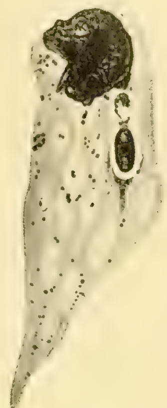


Fig. 2. Corneazelle mit GUARNIERI'schem Körper, mit Einschluß. größeren Initial- und kleinen Elementarformen.

MÜHLENS, HARTMANN, PASCHEN und ARNDT beobachteten gleichfalls die Initialkörper, während ALDERSHOFF sie bei seinen Untersuchungen vermißte.

In nach GIEMSA gefärbten „feucht fixierten“ Präparaten sieht man in der Folge, daß diese Gebilde teilweise von einer transparenten roten Substanz umhüllt werden, während polar ihnen kappenförmig blaue Massen ansitzen (Münch. med. Wochenschrift 1909). Wie wir sehen werden, sind diese beiden eben genannten Komponenten als die ersten Anfänge der GUARNIERI'schen Körperchen (Fig. 3—6) aufzufassen, die wir als Reaktionsprodukte der Zelle deuten; als Fremdkörper müßten sie in einer Alveole (Hof) liegen, die während des Lebens aber nicht sichtbar ist und nach CASAGRANDI ein Kunstprodukt der

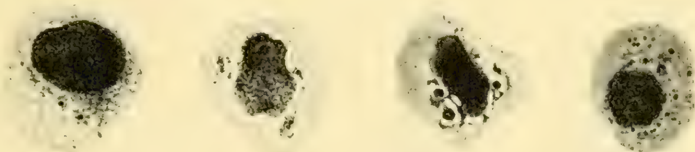


Fig. 3—6. Verschiedene Sfadien der Entwicklung der GUARNIERI'schen Körperchen. Im Zentrum sind die roten Initialformen, die polar von blauen Massen umhüllt werden. In Fig. 6 Initialform (nach v. PROWAZEK und JAMAMOTO).

Schnittmethode ist (vgl. Klatschmethode von EWING). Demgemäß wäre nur das im Inneren des GUARNIERI'schen Körperchens eingeschlossene, hier dann zerfallende Initialkörperchen der Parasit selbst. Die Entwicklung des Vaccinevirus würde sich demnach folgendermaßen gestalten:

1. Zahllose Elementarkörperchen, die sowohl intra- als extracellulär vorkommen, filtrierbar sind und mit denen die Infektion beginnt und schließt.
2. Intracelluläre Initialkörper.
3. Übergangsstadien zu GUARNIERI'schen Körperchen mit zentralem Einschluß peripherer Zone und blaufärbbaren Ansätzen.
4. GUARNIERI'sche Körperchen in verschiedener Ausbildung und Form. (Flig. 7.)
5. GUARNIERI'sche Körperchen mit inneren Einschlüssen, die auch peripher liegen.
6. Zerfall der GUARNIERI'schen Körper und Zerteilung der Initialkörper. Aufteilung in zahllose Elementarkörner.

7. Schließlich sei mit Vorbehalt darauf hingewiesen, daß ich in den Guarnierischen Körperchen in nach Giemsa gefärbten Ausstrichen auch „Dauersporen" ähnliche Zustände sah. „Bei entsprechender Entfärbung mit Alkohol findet man nämlich etwas lichtbrechendere, scharf umschriebene, ovale Gebilde in dem etwas verbreiterten Ende des Initialkörperchens, denen sich der Farbstoff, ohne einzudringen, ziemlich dick anlagert, während der restliche Teil des Initialkörpers ihnen an der Spitze in Knötchenform anliegt" (Arbeiten a. d. K. Gesundheitsamte 1906). Volpino konnte in der gefärbten Vaccinelymphe keine typischen Gebilde finden.

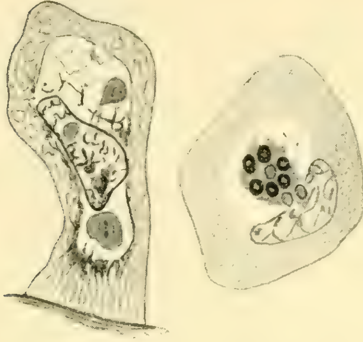


Fig. 7. Zwei Stadien von Guarnierischen Körpern, 61 Stunden nach der Impfung.

Casagrandi beobachtete außerdem „cystische" Formen sowie ovale Gebilde mit einem Anhang, die er dem sexuellen Teil des Entwicklungskreises zuschreibt.

Das Wesen dieser Entwicklung, die mit den Elementarkörperchen beginnt, über Stadien der Initialkörper zu den Einschlüssen Guarnieri's, die später verschwinden, führt, ist noch nicht genau bekannt, immerhin neigt die Mehrzahl der Autoren der Annahme einer Entwicklung zu (Fig. 7, 8, 9 und 10). Es ist möglich, daß hier ein Dimorphismus in der Entwicklung vorliegt. Auffallend und bemerkenswert ist, daß nicht alle Initialformen die Bildung von Guarnierischen Körpern auslösen (!). Kehren wir nun zur Betrachtung der Guarnieri'schen Körper zurück: Sie treten in der geimpften Kaninchencornea etwa 3 Stunden nach

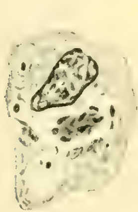


Fig. 8.

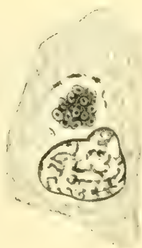
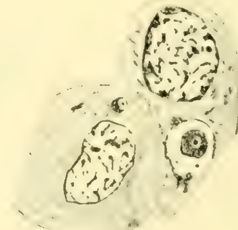


Fig. 9.



Eig. 10.

Fig. 8, 9, 10. Drei Entwicklungsstadien von Guarnieri'schen Körperchen mit Einschlüssen nach Tyzzer.

der Impfung auf und sind reichlich in 2×24 Stunden nach der Inokulation in ihr zu finden. Zu ihrer Darstellung eignen sich folgende Methoden: Die Kaninchencornea wird in verschiedenen Zeiträumen in Sublimatalkohol, in Flemming's oder Hermann's Flüssigkeit oder in Kaliumbichromatessigsäure konserviert und dann nach folgenden Methoden gefärbt:

1. Hämatoxylin, Eosinnachfärbung.
2. Heidenhain's Eisenhämatoxylin.
3. Stark mit Gentianaviolett gefärbt, rasch in Alkohol differenziert, 2 Minuten mit Gram's Lösung nachbehandelt.
4. Methode nach Flemming: 2 Tage in alkoholischer Lösung von Saffranin, rasch

differenzieren, 1/2 Stunde starke wässerige Gentianaviolettlösung, 20 Minuten konzentrierte Orangelösung, rasch Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam.

5. Färbung nach Giemsa bis 24 Stunden, Wasser, 60% Aceton, Aceton, Xylol, Cedernöl.

6. Färbungen mit Methylgrün, Dahlia, Gentiana, Thionin, Viktoriablau usw. Auswaschen in destilliertem Wasser, rasch in 40%igem Alkohol differenzieren, Wasser, Tanninlösung 10 : 50 ca. 10 Minuten, Wasser, 1% Tartarus stibiatus, Wasser, Alkoholreihe, Xylol, Kanadabalsam.

7. Färbung mit Ehrlich-Biondi-Gemisch (Hückel, Süpfle).

8. Alaunkarmin oder Pikrokarmin.

Während Guarnieri und mit ihm Pfeiffer, auf die amöboide Beweglichkeit und Teilung der Körperchen in der geimpften Cornea sich berufend, annahmen, daß es sich bei diesem Phänomen um Protozoen handelt, beschäftigten sich zunächst die zahlreichen Nachuntersucher dieser Gebilde mit der Frage, ob die Vaccinekörperchen für den Vaccineprozeß spezifisch sind.

Monti, L. und E. Pfeiffer, Salmon, Hückel, Bossalino, Gorini u. a. wiesen nach, daß ähnliche Veränderungen bei mechanischer und chemischer Reizung mit Glycerin, Bouillon, Osmiumsäure, Krotonöl, Höllenstein, Canthariden, Semen sinapis Senega, Tusche u. a. nicht auftreten, ebensowenig durch Einimpfung von Haut, Eiter, Monilia candida, Blaseninhalt der Maul- und Klauenseuche (Luesspirochäten, Trypanosomen, Trachomvirus, „Immunserum“ von Variola und Vaccine Prw.) selbst erzeugt werden. Diesen Angaben stehen allerdings die Beobachtungen von Clarke und E. Pfeiffer bezüglich des Schankersekretes, von London in Bezug auf Trippersekret, Fäces und Staphylokokken sowie Ssikorsky (Inaug.-Dissert. Petersburg 1902) und Ewing bezüglich des Serums verschiedener Tiere und Diphtherietoxin gegenüber. Vielleicht handelte es sich in diesen Fällen um von den Epithelzellen phagocytierte und degenerierte Leukocytenkerne, die ich oft beobachtet habe. Sie färben sich im Gegensatz zu den Guarnieri'schen Körperchen nach Giemsa zentral blauschwarz, peripher rot (Granulationen). Hückel, v. Wasielewski und Foa wiesen nach, daß man mit der Biondi-Mischung die stets blau „cyanophil“ sich färbenden Vaccinekörperchen von analogen unspezifischen Einschlüssen differenzieren kann.

Im allgemeinen gelangte die Mehrzahl der Autoren zu folgenden Ergebnissen:

1. In ihrer Färbbarkeit und ihrem Verhalten sind die Guarnieri'schen Körperchen als spezifisch für den Vaccine-Varioläprozeß aufzufassen.
2. Dem Auftreten der Guarnieri'schen Körperchen in der geimpften Kaninchencornea (junge Albinos sind besonders empfänglich) kommt ein diagnostischer Wert zu. — Am raschesten weist man zu diesem Zwecke die Guarnieri'schen Körperchen nach, indem man abgeschabte Teile einer geimpften Kaninchencornea mit Methylgrünessigsäure färbt, oder mit Sublimatalkohol fixiert, einbettet und die Schnitte mit Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin oder nach der neuen Methode von Giemsa behandelt. Klatsch- und Abstrichpräparate eignen sich gleichfalls für die neue feuchte Giemsa-Methode.

Auf der Höhe des Vaccineprozesses sind die mäßig lichtbrechenden, während des Lebens ziemlich homogen aussehenden Vaccinekörperchen in den geblähten Zellen in der Ein- bis Zweizahl vorhanden. In ihnen bemerkt man manchmal kleinere, bewegliche Gebilde. Während des Lebens hängen sie mit dem Protoplasma der Zelle innig zusammen (vgl. Casagrandi), wogegen sie auf Schnitten von einer Vakuole (Konservierungsprodukt) umgeben sind. Mit Vitalfarbstoffen (Neutralrot, Brillantkresylblau) gefärbt, nehmen sie fast keine Färbung an. An den Vaccinekörperchen

kann man allgemein zwei Komponenten unterscheiden, eine die zu den chromatinartigen Farbstoffen (Hämatoxylin, Rot des Giemsa-Farbstoffes, grün des Borrel'schen Gemisches usw.) die größte Avidität besitzt und chromatoide Komponente genannt wird, während die andere Komponente sich wie die Nucleolen der Kerne färbt und als die Plastinkomponente bezeichnet wird. Gelegentlich der Betrachtung über die Genese der Guarnieri'schen Körperchen wurde erwähnt, daß die Rotkomponente zuerst um das Initialkörperchen auftritt, während die Blaukomponente dem stetig wachsenden Gebilde zunächst oft kappenförmig aufsitzt.

Das Aussehen der Körperchen ist je nach dem Entwicklungsstadium sehr mannigfaltig. Hückel, der beste Kenner dieser Einschlüsse, unterscheidet:

1. „nackte Körperchen" ohne Hülle und Körnerzone, die sich nach Biondi dunkelblau färben. Im Zentrum führen sie die Initialkörper. Oft schnüren sie sich ein und nehmen Hantel-, Sanduhr-, Achterformen an. Diese Stadien hatte Guarnieri als Vermehrungsstadien beschrieben.

2. „Körperchen mit zusammenhängender erythrophiler Mantelschichte".

3. Von einer Körnerzone umgebene sphärische Körperchen, die zentrale Masse färbt sich nach Biondi blau, die umgebenden Körner tingieren sich rot.

4. Sphäroide Körper mit zum Cytoplasma ziehenden Fädchen.

5. Halbmond-, Spindel-, Sichel-. Pyramiden- usw. Körperchen.

Außerdem kommen noch einige seltenere Formentypen vor.

Die Körperchen kommen hauptsächlich im Protoplasma vor und dellen oft den Kern ein. Gorini, Bosc, Councilman, Margrath und Brinckerhoff beobachteten sie auch im Kern. Als seltenen Befund habe ich in den Arbeit. d. K. Gesundheitsamtes 1905 in Fig. 11 und 18 Vaccinekörperchen im Kern abgebildet. Zuweilen hängen sie mit dem Kern durch einen Faden zusammen.

Die Guarnieri'schen Körperchen widerstehen ziemlich lange Zeit der Trypsin- und Pepsinverdauung, anschließend eine Zeitlang auch dem Antiformineinfluß, werden durch 20%ige Kochsalzlösung stark deformiert, durch 40%ige Pottaschelösung (2½ Tage) gelöst, ebenso werden sie durch verdünnte Kalilauge zum Verschwinden gebracht. Die Osmium- und Berlinerblaureaktion von List fiel negativ aus.

Bezüglich der Deutung der Guarnieri'schen Körperchen, deren Spezifität nicht mehr zu leugnen ist, ist man sich leider immer noch nicht ganz einig:

1. Viele Autoren halten sie für Protozoen (Guarnieri, Pfeiffer, von der Loeff, Wasielewski (teilweise), Bosc, Calkins, Councilman, Siegel u. a.). Dagegen sind folgende Gründe geltend zu machen:

a) Wären sie Protozoen wie etwa Coccidien, Hämosporidien usw., so müßten sie in einer Art von Vakuole im Protoplasma der lebenden Wirtszelle liegen und nicht mir ihr so innig verbunden sein, daß sie nach der Ewing'schen Klatschmethode und Giemsa-Färbung dargestellt mit ihrem „Reticulum" direkt in das Protoplasma übergehen. Allerdings nehmen einige Botaniker auch besondere Mykoplasmastadien der Rostpilze an, die auch im Verhältnis einer äußerst innigen Symbiose zu ihrer Wirtszelle stehen.

b) Nach dem Vorgang von Foa kann man sie durch 10%ige Kochsalzlösungen zur Quellung und zum Verschwinden bringen und doch kann man mit diesem Material (18—36 Stunden nach Impfung) mit derselben Inkubationszeit weitere Impfungen vornehmen.

c) Im Gegensatz zu den Protozoen kann man unbeschadet verschieden altes Corneamaterial vollkommen eintrocknen oder gefrieren lassen.

d) Auch nach dem Verschwinden der Körperchen kann man mit dem Corneamaterial impfen. Nach Arndt verschwinden die Vaccinekörperchen nach 14 Tagen.

Wasielewski beobachtete sie einmal vereinzelt noch nach 30 Tagen nach der Impfung. Gorini hatte demgegenüber noch mit einem 73 Tage alten Material positive Impfresultate. Nach dem Verschwinden der äußeren Reaktionsprozesse, die als Signal für das Auftreten der histogenen Immunität aufgefaßt werden, ist die Cornea also eine Zeitlang noch Parasitenträger. Die Abimpfung von einer allergetischen Vaccinereaktion am Oberarm des Menschen ergab nach 24 Stunden kein positives Resultat mehr, ebenso kann man allerdings von den Impfstellen eines Vaccinierten nach dem Abheilen der Erscheinungen nicht mehr weiter impfen.

e) Das Vaccinevirus ist filtrierbar, während die Guarnieri'schen Körperchen infolge ihrer Größe zurückgehalten werden.

f) Die Vielgestaltigkeit der Körperchen kann mit den Entwicklungsvorgängen der bis jetzt bekannten Protozoen nicht in Einklang gebracht werden. es ist aber nicht zu leugnen, daß ihnen vielleicht eine Entwicklung eines Protozoons zugrunde liegen kann (vgl. die Bemerkungen von Hartmann und Mühlens). Den hier angeführten Gründen gegen die Annahme, daß die Vaccinekörperchen selbst Protozoen sind, kommt allerdings eine verschiedene Dignität zu, so können die sub e und f angeführten Gründe durch Annahmen von Hilfshypothesen entkräftet werden, vor allem kann die Annahme von verschiedenen gleichzeitig vorkommenden Entwicklungsstadien viele Gegengründe hinfällig machen.

2. Anhänger der „Degenerationshypothese" bzw. „Reaktionshypothese" sind Salmon, Metschnikoff, Hückel, Foa, Babes, Copeman, Ruffer, Leoni, Ferroni, Massari, Arndt, Paschen, Prowazek, Yamamoto, Keysselitz, Mayer, Süpfle, London, Ssikorsky, Schrumpf u. a.

1. Leukocytenhypothese. Nach Salmon und Metschnikoff sowie London und Ssikorsky sind die Vaccinekörperchen von Epithelzellen aufgenommene und degenerierende Leukocyten. Es ist nicht zu leugnen, daß die phagocytäre Fähigkeit der Epithelzellen wie bei vielen Chlamydozoenkrankheiten so auch bei der Vaccine erhöht wird, so daß man oft in den Zellen 2, 3 und mehr inokulierte Leukocyten findet. Gegen die referierte Erklärung ist folgendes einzuwenden.

a) Die Leukocyten kann man durch die Biondi-Färbung sowie Alaunfuchsin-Hämatoxylinmethode von Wasielewski von den Vaccinekörperchen unterscheiden.

b) Die Vaccinekörperchen treten zu einer Zeit auf, da die Leukocyteneinwanderung unerheblich ist.

c) Bei den Vaccinekörperchen kann man alle Zwischenstadien einer intracellulären Vergrößerung verfolgen.

d) Durch Beträufelung mit Opiumlösungen kann man die Diapedese der Leukocyten zurückhalten, während sich die Vaccinekörperchen doch bilden.

e) Versuche über Züchtung der Vaccinekörperchen in herausgeschnittener Cornea in Petrischalen im Thermostaten, die ich 1905 (Arb. aus d. K. Gesundheitsamt XXII, 544) versucht und die Aldershoff (Annales de l'Institut Pasteur 1906) vollends gelungen sind, können auch gegen die Leukocytentheorie angeführt werden.

2. Kernhypothese. Anhänger derselben sind Babes, Copeman, Mann, Ruffer, Leoni, teilweise Paschen, dann Aldershoff.

Das Auftreten der Vaccinekörperchen in der Nähe des Kernes, ihr oben erwähntes zentraliges, wenn auch seltenes Vorkommen im Kern selbst, ihre Resistenz der Verdauung gegenüber und das mikrochemische sowie färberische Verhalten kann für ihre Kernnatur angeführt werden. Gegen diese Annahme sprechen folgende Gründe:

a) Die Guarnieri'schen Körper können nicht Nebenkerne sein, da wir sie auf Grund ihrer Struktur von diesen unterscheiden können.

b) Sie können nicht im Sinne von Babes ausgetretene N u k l e o l e n sein, da diese nach der Giemsa- oder Mallory-Methode dargestellt, immer noch i n d e m Kern nachweisbar sind.

c) Die Ewing'sche Klatschmethode verbunden mit einer t r o c k e n e n Fixation eignet sich nicht, wie Paschen versucht hatte, zur d e f i n i t i v e n Erledigung d i e s e r Frage, da Verschiebungen, Verzerrungen usw. durch das Trocknen hervorgerufen werden und die Guarnieri'schen Körperchen bereits artifiziell unnatürliche N e t z - und G e r ü s t s t r u k t u r e n erhalten.

Nach Mallory gefärbt, nehmen die Vaccinekörperchen auf ihren ersten Stadien allein g e l b e Farbentöne (Plastine) an, die den danebenliegenden Kernen bei guter Färbung fehlen.

Die übrigen Einwände haben bereits Hückel und Süpfle zurückgewiesen. Von einer Ableitung der Körperchen von „Nekrosen, Chromatolysen" usw. kann keine Rede sein, da die Kerne selbst sich noch längere Zeit normal verhalten, ja teilen können.

3. Archoplasmahypothese (Ferroni, Massari): Die Vaccinekörperchen sind metamorphosierte oder degenerierte Archoplasmen. Dagegen spricht das Aussehen, Größe, Verhalten der Vaccineeinschlüsse sowie der Umstand, daß die befallenen Zellen einer normalen Karyokinese noch fähig sind. „Merkwürdigerweise treten auf alten Stadien der Infektion in der infizierten Zelle vielfach Strahlungsphänomene auf und die Tätigkeit der Centrosomen wird mit der vorschreitenden Schädigung der Zelle von neuem angefacht, ohne daß es zu einer wirklichen Zellteilung mehr kommt. Manchmal werden die großen, sphärischen noch immer sich ausbreitenden Vaccinekörperchen auch von diesen Strahlungsvorgängen erfaßt und zerplatzen gleichsam raketenartig" (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte XXII, 1905).

4. Cytoplasmahypothese von Hückel. Dieser Autor leitet die Einschlüsse vom Protoplasma ab und gibt für jede ihrer Komponenten in genetischer Hinsicht eine b e s o n d e r e Erklärung ab. Unter dem „d i s s o z i i e r e n d e n" Einfluß des s p e z i f i s c h e n Giftes entsteht die e r y t h r o p h i l e Komponente des Gebildes, die aber auch durch Osmiumätzungen und andere u n s p e z i f i s c h e Einflüsse erzeugt werden kann. Die Spezifität des Vaccinegiftes kommt erst bei der Produktion der cyanophilen Komponente zum Durchbruch, das Gift wirkt neben der Dissoziation (Signal: erythrophile Komponente) auch „chemisch verändernd" ein (Signal: cyanophile Komponente).

Zwischen der Zellkernhypothese und der Cytoplasmahypothese wäre der Erklärungsversuch von Süpfle zu stellen:

„Ich möchte daher annehmen, daß das Virus der Vaccine eine s p e z i f i s c h e G i f t w i r k u n g zunächst auf die Z e l l k e r n e ausübt. — Die n a c k t e n Körperchen würden also allein dem Zellkern ihre Entstehung verdanken. Zur Erklärung der M a n t e l k ö r p e r c h e n dürfte man die Beteiligung des Z e l l p r o t o p l a s m a s annehmen."

Die hier angeführten Autoren nahmen zunächst g r ö ß t e n t e i l s an, daß das Virus d i e Z e l l e n befällt und i n i h n e n diese Reaktionen auslöst. Volpino, Casagrandi, Prowazek, Yamamoto lokalisieren ihre unwesentlich sich unterscheidenden Elementarkörperchen auch i n die Zellen, dasselbe gilt von den Initialkörperchen. Paschen stellt sich mit einer gewissen Zurückhaltung die Sachlage einfacher vor; er betont mehr ein e x t r a c e l l u l ä r e s Auftreten der Elementarkörperchen, hält das intracelluläre Vorkommen für unbewiesen und will z u n ä c h s t einer „Entwicklung" der Gebilde nicht das Wort reden. Paschen nimmt auch an, daß die Vaccinekörperchen zwar nur Reaktionsprodukte der Zelle auf das Virus sind, und daß dieses nach seiner Vorstellung die Zellen nicht direkt, sondern durch eine Art von Fernwirkung durch seine T o x i n e beeinflussen würde. Demgegenüber ist darauf hinzuweisen,

daß analoge spezifische Einschlüsse auch bei der Hühnerpocke und Trachom vorkommen, wo sicherlich das Virus intracellulär auftritt. Dasselbe gilt bezüglich der Lyssa nach den neueren Untersuchungen von Babes, Negri und Koch. Wie kennen kein Toxin, das so spezifische, in progressiver Metamorphose begriffene, aus drei besonderen Elementen bestehende Gebilde (Initialkörper, chromatoide und plastinartige Komponente) produzieren würde. Mit abgetöteter Lymphe, mit der zuerst Gorini Impfungen vornahm, konnte weder ich noch Arndt die typischen Körperchen erzeugen, ebensowenig mit spezifischem Serum. Aktive Lymphe erzeugt bei der allergetischen Frühreaktion in den Epithelzellen auch keine Vaccinekörperchen (Arndt). Für ein intracelluläres Vorkommen des Virus sprechen schließlich die Beobachtungen von Volpino, Borrel, Prowazek, Arndt, Yamamoto und Répin (Ann. de l' Inst. Pasteur 1909) sowie die Versuche von Prowazek, Pugliese und Debenedditi, die allerdings wegen ihrer schwierigen Anordnung nicht so beweiskräftig sind wie die direkten Beobachtungen. Auch der negative Ausfall der Filtrationsversuche von Chauveau, Schulz und Weil, Frosch, Gorini, Santori u. a. ist jetzt aus einer innigen Verbindung des Virus mit dem Zelldetritus zu erklären.

Aus allen den bisherigen Untersuchungen und Versuchen, die die Erklärung der Guarnieri'schen Körperchen zum Gegenstand haben, müssen wir derzeit annehmen, daß die fraglichen Gebilde zwar nicht in ihrer Totalität die Parasiten sind, jedoch teilweise dieselben einschließen und als Reaktionsprodukte des Zellplasmas auf das eingedrungene Virus aufzufassen sind. Chromatin- und plastinartige Stoffe kommen nach den neueren Untersuchungen auch im Cytoplasma vor und man braucht nicht mehr auf den voll ausgebildeten Kern als den Produzenten dieser Substanzen zurückzugreifen. In dem Kaninchencorneaepithel sind auch bereits normal Chromidien nachgewiesen worden.

Die Körperchen entstehen auch vielfach fern vom Kern im Cytoplasma aus kleinen Gebilden, die fast wie kleine Protozoen aussehen, sich vergrößern und sich im Zustande einer Metagenese, die mit einer einfachen Degeneration nichts zu tun hat, befinden.

Die eigentlichen Parasiten sind die Elementarkörper, die intracellulär Entwicklungsstadien durchlaufen, die Initialkörper bilden und hier an Ort und Stelle ihrer Wirksamkeit teilweise als Abwehr- Reaktionsprodukte der Zelle: die Bildung von Guarnieri'schen Körperchen auslösen. Der Parasit selbst möge Chlamydozoon variolo-vaccinae heißen.

4. Biologische Eigenschaften des Virus.

Das Virus kommt in großer Menge in der Lymphe vor und man kann mit ihr in Verdünnungen über 1: 1000 noch mit Erfolg Impfungen an der Kaninchencornea vornehmen.

Eine Züchtung des Virus ist bis jetzt trotz zahlreicher Bemühungen, von denen hauptsächlich die von Pröscher und Volpino genannt werden mögen, nicht gelungen. Licheri (Annali d'igiene sperimentale XIX, 1909) versuchte den Erreger in Lösungen von Blastomycetennuclein nach einer Filtration durch Berkefeld-Kerzen W zu züchten.

Nach den Untersuchungen von Negri (Società Italiana d. Patologia Centralbl, f. Bakt. 1905, Gazz. med. ital. 1905) ist das Vaccinevirus durch Berkefeld-Kerzen V filtrierbar. Casagrandi, Remlinger und Nouri sowie Rouget haben früher den Nachweis der Filtrierbarkeit der Vaccineerreger indirekt erbracht, indem sie die Filtrate subkutan einspritzten und dann die Tiere auf ihre erworbene Immunität prüften. Ausgedehnte Filtrationsversuche stellte Casagrandi an (vgl. Kapitel Variola).

Carini konnte das Virus sowohl durch Berkefeld-Kerzen V als N und Silberschmidt-Kerzen filtrieren. Die früheren Mißerfolge sind auf den Umstand zurückzuführen, daß das Virus innig mit den Zellen verbunden ist und daß man diese erst durch Mazeration aufschließen muß, um das Virus für die Filtration freizuerhalten. Filtrationsversuche mit positivem Impfausgang stellte ferner Siegel mit Organsaft und Blut eines vor einigen Tagen geimpften Kaninchens an; Mühlens und Hartmann erhielten auf diese Weise keine Resultate. Durch Colloidfilter (siehe Variola) wird das Virus zurückgehalten und man kann diese Methode zur Darstellung keimfreier Lymphe vielleicht verwenden.

Das Virus ist gegen Austrocknung und hohen Druck (3000 Erg. Atwood'sche Fallmaschine) unempfindlich, ebenso gegen wiederholtes Einfrieren und Wiederauftauen. Monatelang andauerndes Trocknen schädigt nach Sacco (1809) die Lymphe.

Dagegen wird die Lymphe durch Wärmegrade, die um 60° C liegen, bald inaktiv (nach Süpfle 1 Stunde 60° Thermostat). Nach van Geuns und Carini genügen 15 bis 20 Minuten zur Abtötung. Nach Power wird Glycerinlymphe nach 5 Minuten bei einer Temperatur von 57,5° C unwirksam.

Green gibt an, daß getrocknetes Vaccinematerial 5—10 Minuten eine Erwärmung auf 100° C verträgt.

Das Vaccinevirus widersteht lange Zeit der Trypsin- und Pepsinverdauung, wird durch konzentrierte Kochsalzlösungen nicht inaktiviert. Nach Sacco waren für die Lymphe Essig, Ammoniak, „gasförmige Säure", reiner Alkohol schädlich, unschädlich Speichel, kaltes Wasser, Gummi-arabikum, verdünnte Ammoniaklösung. Konzentrierte Galle zerstört in den meisten Fällen die klare Vaccinelymphe. Glycerinlymphe mit 1% Eosin gemischt und dem hellen Tageslicht ausgesetzt zerstört nach 12—24 Stunden das Virus. Arndt (Centralbl. f. Bakt. 1908) gibt an, „daß Abrin und Ricin in Mengen von 1 mg Lymphe bei 24 stündiger gegenseitiger Einwirkung abzutöten vermögen, während dem Saponin unter gleichen Bedingungen diese Fähigkeit zu fehlen scheint".

Umfangreichere Versuche haben Friedberger und Yamamoto angestellt; nach ihnen wird die Vaccine nach 18 Stunden durch $^1/_{1000}$ Argent. nitr., $^1/_{100}$ Atoxyl-Thioglykolsäure, $^1/_{10000}$ Formalin, $^1/_{1000}$ Antiformin, $^1/_{100}$ Hydroxylamin, $^1/_{10000}$ Solanin, $^1/_{100}$ Saponin, $^1/_{100}$ Sapotoxin, $^1/_{100}$ ätherlösliche Gallensalze, $^1/_{1000}$ Methylenblau oder Eosin in 7 Stunden im vollen Sonnenlicht inaktiviert. Diese Lichtwirkung auf das Virus wird von den Autoren mit photodynamischen Eigenschaften der Farbstoffe in Zusammenhang gebracht. Noch auffallender ist die abtötende Wirkung von Neutralrot, das im Sonnenlicht in ½ Stunde in einer Verdünnung von $^1/_{10000}$, in 7 Stunden in einer Solution von $^1/_{10000000}$ die Vaccine ihrer Aktivität beraubt.

Die Vaccine ist an anthropomorphe und andere Affen, Boviden, Pferde, Schafe, Hunde, Katzen, Meerschweinchen, Kaninchen (Nüstern, Ohren, Haut, Cornea) Ratten usw. übertragbar. Der von Kaninchen gewonnene Impfstoff wird Lapine oder Liporine (Chalybäus) genannt. Voigt verimpfte mit Erfolg die Vaccine an Kamele. Hückel stellte auch Versuche über Übertragbarkeit der Vaccine auf die Cornea von Hühnern an. Arndt impfte mit negativem Resultat die Cornea von Huhn und Taube. Auch Volk und Kraus halten die beiden genannten Tierarten für die Vaccine als unempfänglich. [1])

5. Generalisation des Vaccinevirus.

Für die Beurteilung der Vaccineimmunität ist die Kenntnis des Verhaltens des Virus im Tierkörper eine unerläßliche Vorbedingung. Die mannigfachen Probleme

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. Nach Casagrandi ist das Huhn für den Nachweis kleinster Virusmengen besonders geeignet.

über das Verbleiben des Vaccineantigens im Organismus können in der Frage: Kreist das Vaccinevirus vom Orte seiner Einverleibung im Körper? zusammengefaßt werden.

Über diese Frage liegen bereits zahlreiche Beobachtungen vor und sie sollen je nach der Tierspezies der Betrachtungen hier unterworfen werden. Reiter und Pfeiffer geben an, daß sie mit Vaccineblut von Kindern auf größeren Kontaktflächen positive Impfresultate erzielt haben. Halberstaedter und Prowazek konnten sich bei Affen von einer Generalisation des Vaccinevirus von der Haut aus trotz einer sorgfältig ausgearbeiteten Versuchstechnik nicht überzeugen.

Frosch gibt dagegen an, daß das Virus eine bestimmte Zeit im Körper des Kalbes kreist, dieselben Resultate erzielten Vanselow und Freyer, während Hiller und Paschen auf Grund ihrer Versuche zu einer entgegengesetzten Ansicht gelangt sind. Paschen berichtet über negative Impfungen mit Organsaft von Milz, Bronchial-, Mediastinal- und Supramammaldrüsen. Zahlreich sind die Beobachtungen über das Verhalten des Vaccineerregers im Kaninchenkörper. Bei kutaner und cornealer Verimpfung generalisiert sich das Virus nicht nach Jürgens, Prowazek, Haaland, Hauser, Paschen, Mühlens und Hartmann, Ohly u. a. Diesen Angaben ist die Beobachtung von Siegel (1 Fall), Wasielewski (1 Fall) und Aldershoff (2 Fälle) sowie zum Teil von Casagrandi gegenüber zu stellen. Bei diesen Versuchen handelte es sich um Nierensaft von Kaninchen. Mulas (Annali d'igiene sperim. XXIX, 1909) konnte gleichfalls nach subkutaner und endocornealer Impfung am dritten Tage in der Kaninchenniere das Virus nachweisen. Diese Beobachtungen stehen sich aber zunächst schroff unvermittelt gegenüber.

Generalisationsversuche an Kaninchen führte Süpfle aus und kommt zu dem Resultat: „Meine Versuche führen also zu dem Ergebnis, daß der lokal inserierte Vaccineerreger beim Kaninchen nicht in den allgemeinen Kreislauf übergeht.“ Wahrscheinlich findet beim Kaninchen im allgemeinen kein Kreisen des Virus nach einer kutanen Einverleibung statt und nach Paschen ist dieses Verhalten auch für den Kalborganismus anzunehmen.

Bei intravenöser Einführung des Virus gelangte man bei Kaninchen zu folgenden Resultaten: Blut an und für sich vernichtet nicht das Virus, da gleich aus der Ohrvene entnommenes Blut nach 2, 3, 6, 24 Stunden noch infektiös ist, dagegen verschwindet das Virus nach 1 Stunde aus der Blutbahn und ist nach 2 Stunden nach der Injektion in den Leber-, Milz- und Knochenmarkemulsionen durch eine Corneaimpfung nachweisbar (Yamamoto-Prowazek). Casagrandi gibt an, daß er noch 15 bis 20 Tage nach einer kutanen Impfung das Virus im Knochenmark feststellen konnte. Werden intravenös geimpfte Albinoskaninchen am Rücken und Nacken mit Kalziumhydrosulfit depiliert und ihre Haut durch Reiben mit Sandpapier aufgeschlossen, so erhält man 4 Stunden nach der Infektion konfluierende Hautpocken, die nach 24 und 2×24 Stunden geringer sind. Jedesmal wurde von diesen Hautaffektionen eine Kaninchencornea geimpft und man konnte sich überzeugen, daß es sich wirklich um eine Vaccine gehandelt hatte. Die Ergebnisse dieser Versuche stehen in Einklang mit analogen Experimenten von Calmette und Guérin.

Aus ihnen geht hervor, daß das Virus nach 1 Stunde aus dem Blutstrom, nach 2 Stunden aus dem Knochenmark, nach 4 aus der Leibeshöhle verschwindet, daß es aber noch in der Hautdecke lebt, seine Virulenz bewahrt und bei Eröffnung des Hautorgans sofort seine Tätigkeit entfaltet. Das Vaccinevirus ist demnach ein vorwiegend epidermales Virus, das Epitheliosen erzeugt. Einmalige Impfung der Haut ruft eine totale Immunität des Hautorganes hervor, während die Impfung der Cornea eine streng lokale, zirkumskripte Zellimmunität auslöst. Diese Gegensätze sind aus den physiologisch-morphologischen Verhältnissen beider Differenzierungen zu erklären. Die Haut mit ihrem reichlichen Säfteaus-

tausch, ihren wenig abgegrenzten Zellen stellt gleichsam ein Blastem im Sinne der älteren Morphologen dar, während im Corneaepithel die Zellen mehr abgesondert übereinander geschichtet sind, der Cytolisthesis und Framboisia externa (Roux) leicht unterliegen und dem gefäßlosen Bindegewebe ansitzend mehr ein Sonderdasein führen. Auf die eigenartigen Verhältnisse des Corneaepithels haben bereits Ranvier (Arch. d. anatom. microscop. 1898) sowie Metschnikoff (Immunität b. Infektionskrankh. 1902 S. 329) hingewiesen.

Bei intraperitonealer Einverleibung ist das Virus noch nach 2 (4) Stunden nachweisbar, wird sodann von den Leukocyten aufgenommen, die die Parasiten aber nicht sofort vernichten, da das nach 4—21 Stunden entnommene Aleuronatexsudat durch wiederholtes Frieren oder Zerreiben mit Kieselgur seine Infektiosität bei einer Verimpfung auf eine Kaninchencornea zeigte (Prowazek, Arb. a. d. K. Gesundheitsamt XXVI, 1907 S. 56 4. Zeile von unten soll statt „1—24 Stunden", 1—2 Stunden heißen).

Aus allen bisherigen Versuchen geht mehr oder weniger deutlich hervor, daß das Vaccinevirus die Tendenz besitzt in das Hautorgan einzuwandern, hier lokal zu inserieren und seine Entwicklung durchzumachen und bereits dieses Verhalten deutet darauf hin, daß die Immunität vorwiegend eine histogene Immunität sein wird.

6. Vaccineimmunität.

Pfeiffer (Zeitschrift f. Hygiene 1887) huldigte noch der Anschauung, daß bei der Vaccination und Variolisation im Körper Keime zurückbleiben, die den Immunitätszustand jahrelang unterhalten und daß mit ihrem Absterben die Immunität erlischt.

Sofern man das Verschwinden der Guarnieri'schen Körperchen als ein Signal für die Hautimmunität betrachtet, könnte man zugunsten der Ansicht von Pfeiffer die Beobachtung anführen, daß zwar in der Kaninchencornea im allgemeinen die Guarnieri'schen Körper nach 14 Tagen nach der Infektion verschwinden, die Cornea aber oft noch nach 21, 30 Tagen und mehr (Arndt, Wasielewski, Gorini) infektiös ist. Die einmal infizierte Cornea stelle kann zwar nicht mehr superinfiziert werden, die Zellen sind immun, das Virus kann aber noch in den Intercellularen ruhen (Prowazek, Arndt, Volpino, Pugliese und Debenedetti). — Die Cornea ist eine Zeitlang als Parasitenträger aufzufassen. Daß der einmal mit Erfolg vaccinierte Mensch nach längerer Zeit jedoch nicht mehr Parasitenträger ist, davon kann man sich überzeugen, sobald man von der kritischen Hautstelle Kaninchencorneaimpfungen vollzieht.

Alle diesbezüglichen Versuche fielen bis jetzt negativ aus. Auch von einer Frühreaktionsstelle der Haut konnte ich nach 24 Stunden nicht mehr mit Erfolg impfen. Eine Immunität kann auch ohne im Körper verbleibende Keime durch subkutane Vorbehandlung mit abgetöteter Lymphe erzielt werden. Die einmal vorbehandelten Albinoskaninchen können nicht mehr kutan, wohl aber corneal infiziert werden.

Aus allen diesen Versuchen geht also hervor, daß die Immunität von der Eigenschaft des Organismus als zeitweiliger Parasitenträger unabhängig ist.

Bezüglich der Antigene der Vaccine wissen wir folgendes: Während nach Power die Lymphe wochenlang die Kälte von —180° C der flüssigen Luft verträgt, ist das Virus ziemlich thermolabil und wird durch Temperaturen, die um 60° liegen, bald abgetötet. Janson (Centralbl. f. Bakt. X) und Tedeschi (Trieste Tip. d. soc. de tipograp 1901) geben an, daß sie mit erhitzter konzentrierter Lymphe von der Subcutis nicht immunisieren konnten. Kraus und Volk konnten dagegen mit auf

58° durch eine halbe Stunde erwärmter Lymphe, „welche in ihrer Vitalität zerstört war", bei Affen eine Hautimmunität erzielen. PROWAZEK konnte zwei Affen mit durch Kaninchengalle abgetöteter (Corneaimpfung negativ) Lymphe (1 ccm Vaccinelymphe + 1 ccm Galle, öfters Umschütteln, 6 Stunden Einwirkungsdauer) auf subkutanem Wege immunisieren.

Auch SÜPFLE konnte mit bei 60° C (1 Stunde) abgetöteter Vaccinelymphe bei einem Teil der Tiere durch subkutane oder intravenöse Injektion von ½—2 ccm eine Immunität erzielen. Ähnlich lauten die Ergebnisse der Versuche von KNÖPFELMACHER. Immerhin folgt aus diesen Versuchen, daß die Antigene abgetöteter Vaccineerreger die Bildung von parasiticiden Immunkörpern noch auslösen können. Abgetötete Lymphe produziert auf der Kaninchencornea nach 24 Stunden keine GUARNIERI'schen Körper mehr — man findet in den Zellen nur ab und zu phagocytische neutrophile Leukocyten, deren Kerne Vaccinekörperchen vortäuschen können (2—3 fach gelappte Einschlüsse; außen roter Granulabesatz — feuchte Fixierung der Ausstriche; GIEMSA-Färbung). Das Epithel zeigt auch nicht die starke Schwellung und Proliferation, die wir vom normalen Vaccineprozeß der Cornea kennen. Es scheint aber, daß durch gewisse Stoffe der abgetöteten Erreger die phagocytäre Fähigkeit der Corneazellen erhöht wird, die dann nach Art der LEBER'schen Zellen beim Trachom und Blennorrhoe die charakteristischen neutrophilen Leukocyten, die den Vaccineprozeß begleiten, in sich aufnehmen und verdauen.

Eine Immunität ohne Anwendung des lebenden Virus erzielten auch DE WAELE und SUGG, indem sie Kälbern Collodium-, Schilfrohr- oder Cellulosesäckchen mit Lymphe auf 3—7 Tage unter die Haut brachten. ZEDDA (Ref. in Centralbl. f. Bakt. II. Teil XLV) versenkte Collodiumsäckchen in größere, mit Ziegen- und Hundeserum angefüllte Reagenzröhren und konnte nach 10—15 Tagen dann mit diesem Serum Hunde subkutan und intravenös immunisieren. SÜPFLE hatte ähnliche Versuche angestellt und möchte aus seinen bisherigen „Ergebnissen schließen, daß in der Tat antigene Körper der Vaccine, allerdings nur sehr schwer, durch Cellulosemembranen dialysieren".

PROWAZEK und ARAGAO konnten mit durch Colloidschichten filtrierter Variolalymphe bei Kaninchen, die subkutan in Intervallen von 4 Tagen 3 mal mit je 2 ccm des Ultrafiltrates behandelt worden waren, ebensowenig eine Immunität erzielen als dies mit den sogenannten Colloidfiltraten der Hühnerpest möglich war.

Für das Studium der Vaccine-Variolaantigene und Antikörper ist die Methode der Komplementablenkung oder -fixation angewendet worden. JOBLING und CASAGRANDI erhielten positive, HELLER, TOMARKIN, BERMBACH und XYLANDER negative Resultate. BERMBACH fand bei 18 Geimpften und Revaccinierten keine Vaccineantikörper im Serum.

Ausführliche Studien in dieser Richtung führte an Kaninchen und Kälbern A. MOSES (Memorias do Instituto Oswaldo Cruz Rio de Janeiro 1909) durch. „Im Gegensatz zu CASAGRANDI, BEINTKER und SUGAI, welche im Serum von Pockenkranken Antikörper für Vaccine und Variolavirus fanden, kam ich in der Mehrzahl der Fälle zu einem negativen Resultate. Bei Variola und Varicellafällen konstatierte NICOLAU BETTENCOURT die Unmöglichkeit, spezifische Körper durch die BORDET'sche Reaktion nachzuweisen" (A. MOSES). Untersuchungen über Vaccinepräcipitine liegen von TANAKA (Centralbl. f. Bakt. XXXII 1902), FREYER (Centralbl. f. Bakt. XXXVI) und CASAGRANDI (Policlinico Sez. Prot. 1905 Fasc. 15) vor. Die genannten Autoren kamen im Gegensatz zu PROWAZEK und v. PIRQUET (Wien. klin. Wochenschr. 1906) zu dem Resultat, daß sich Präcipitine nachweisen lassen.

Die Mehrzahl der Untersucher mit der teilweisen Ausnahme von NOBL geben an, daß die Immunität bei der Vaccination nicht mit einem Schlage auftritt, sondern sich erst nach und nach entwickelt. Beim Menschen kommt sie zu vollkommener

Ausbildung etwa am 7.—10. Tage, zu welchem Zeitpunkt die Nachimpfung reaktionslos verläuft. Kraus und Volk haben für Affen festgestellt, daß „die Immunität im allgemeinen vor dem 10. Tage auftritt, daß aber der Tag des Eintrittes nicht gesetzmäßig ist, insofern als er zwischen dem fünften und zehnten Tag post infectionem schwankt. Immerhin läßt sich sagen, daß nach kutaner Infektion eine kutane Immunität, so wie sie beim Menschen bekannt ist, besteht".

Beim Kalb erlangt nach Risel am 13. Tag die Immunität ihren Höhepunkt; nach Kelsch ist dieses bereits am 5.—6. Tage der Fall. Wie der variolisierte Organismus kann der Vaccinierte nach Verlauf von einigen Jahren bei der Revaccination mit einer Pustelbildung reagieren, womit aber nicht gleichzeitig behauptet werden darf, daß der Impfschutz vollkommen erloschen, der Organismus „pockenfähig" geworden ist (Kübler, Voigt, Pfeiffer). Nach Külz (Archiv f. Schiffs- und Tropenhygiene 1905) antwortet der Neger besonders leicht mit einer Pustelbildung auf Revaccination und Paul führt Leute an, die alle 2 Jahre mit Erfolg revacciniert werden konnten.

Eine Immunisierung des Organismus gegen Vaccine ist nach diesen Erfahrungen auch ohne Ausbildung einer Pustel möglich, indem man das Virus auf subkutanem Wege einverleibt (Fröhlich 1867, Chauveau 1877, Warlomont 1882, Béclère, Chambon und Ménard 1896, Kraus und Volk 1907, Nobl und Knöpfelmacher 1906, Prowazek 1907, Casagrandi 1907 u. a.). Kraus und Volk wandten bei ihren subkutanen Injektionen an Affen $^1/_{1000}$ verdünnte Lymphe und konnten feststellen, daß solche Injektionen vollkommen reaktionslos verlaufen. An der Injektionsstelle treten bei den Versuchstieren brettharte Infiltrate auf, die zuerst Chauveau betrachtet und die von Knöpfelmacher und Prowazek mit der Entstehung der Immunität in Zusammenhang gebracht worden sind. Hückel, Brinckerhoff und Tyzzer haben Guarnieri'sche Körperchen auch im Bindegewebe gefunden und es ist anzunehmen, daß die Immunisierung in diesen Fälllen von dem subkutanen Bindegewebe wo die spezifischen Veränderungen nachweisbar sind, ausgeht.

Sehr eigenartig sind die Immunitätsverhältnisse in der Cornea — die Immunität ist hier streng lokal histogen, so daß man selbst von der Erstimpfung weiter entfernte Stellen mit Erfolg reinfizieren kann, ebenso wird von der Corneaimmunität das übrige Hautorgan sowie die Cornea des anderen Auges nicht betroffen. Nach Calmette und Guérin, Haaland, Hückel, Prowazek, Paschen, Süpfle ist das einmal kutan, subkutan oder intravenös geimpfte Kaninchen mit Ausnahme der Cornea immun. Hückel ebenso wie Paschen haben diese Verhältnisse allerdings noch nicht als Folge einer lokalen Immunität betrachtet, sondern faßten die Impfung des Auges als Revaccination auf, wobei die Cornea mit prompter Zuwanderung von Leukocyten und Produktion von Vaccinekörperchen antwortet. In diesem Sinne hat auch Süpfle (Beiträge zur Kenntnis der Vaccinekörperchen 1905) diese Verhältnisse gedeutet, ein Standpunkt, der wohl jetzt nicht mehr verfochten wird (Paschen, Hygienische Rundschau 1905). Das Kammerwasser des immunen Auges besitzt mit der frischen Lymphe auf 24 Stunden zusammengebracht, keine parasiticiden Eigenschaften, ebensowenig wie das Blutserum corneal geimpfter Kaninchen. Süpfle hat bei kutan und subkutan immunisierten Kaninchen am 12.—15. Tage nach der Infektion das Kammerwasser abfließen lassen und erst nach abermaliger, sekundärer Füllung der vorderen Kammer die Cornea geimpft, aber auch in diesem Falle war die Cornea noch infektionsfähig.

Nach Kraus und Volk hat die intraperitoneale Immunisierung zwar eine Immunität der Haut, nicht aber der Cornea zur Folge.

Es gelang ihnen jedoch durch eine konjunktivale Infektion Immunität der Haut und auch der Cornea derselben Seite bei den Affen zu erzeugen, bei diesen

Versuchen ist aber nicht ausgeschlossen, daß mit geringen Mengen des Virus doch noch eine Corneainfektion stattgefunden hatte.

Biologisch verhält sich das Auge in vielen anderen Fällen ganz anders als der übrige Organismus (Präzipitation, Anaphylaxie usw.), so daß die für den ersten Augenblick überraschenden Immunitätsverhältnisse der Cornea nicht so isoliert dastehen und aus der Anatomie sowie Ernährungsphysiologie des Auges ihre Erklärung finden.

Die Impfung setzt in erster Linie eine Hautimmunität; vom Hautorgan aus erscheinen unregelmäßig nach einiger Zeit und für einen nicht allzulangen Zeitraum Antikörper im Blutstrom, was bei einer cornealen Immunisation gar nicht der Fall ist. Die Immunität der Vaccine-Variola ist in erster Linie eine celluläre und wird bei der Zellteilung und Regeneration als eine celluläre Eigenschaft für eine Zeitlang teilweise erhalten. Es ist bis jetzt wohl der sichere Nachweis erbracht worden, daß die Antikörper der Zellen komplexer Natur sind und wir wissen nicht, wie sie überhaupt wirken. (Bezzüglich der Schutzstoffe des Blutes siehe unten.) Bei der Variola schienen unter ihrem Einfluß die Keime abzunehmen, nach Volpino werden sie immobilisiert, von einer agglutinierenden und parasitotropen Wirkung konnte ich mich in einwandfreier Weise nicht überzeugen, wiewohl in den polynucleären Leukocyten oft Keime nachgewiesen worden sind (neu Methode von Giemsa, starke Differenzierung). Immune Corneazellen schwächen das Virus erst nach einer Aufschließung oder feinen mechanischen Zertrümmerung durch Kieselgur ab.

Immunkörper vermuteten oder suchten im Blute nachzuweisen: Chauveau, Raynaud, Janson, Cramer und Boyce, Landmann, Rembold, Freyer, Beumer und Peiper. Strauss, Chambon und Ménard konnten erst mit den bedeutenden Mengen von 4—6 kg Blut am 7. Tage nach der Pustulation mit Erfolg immunisieren, während dem Blute, das 6 Wochen nach der Impfung entnommen worden ist, keine immunisierende Kraft innewohnte. Camus (Journ. d. Physiol. et Pathologie 1908) beobachtete, daß Serum immuner Kaninchen Vaccinevirus neutralisiert.

Nach Hlava, Zagari, Béclère, Chambon und Ménard sowie Risel gewinnt das Blutserum diese Eigenschaften vom 10.—50. Tage.

Die Immunkörper werden aber in so geringer Menge gebildet, daß sie für die Praxis bedeutungslos sind. Gleichzeitig mit diesen Experimenten wurden auch Versuche angestellt, um die virulicide Wirkung des Immunserums in vitro nachzuweisen (Sternberg 1892, Kinyon 1894, Béclère, Chambon und Ménard 1899, Martius 1900, Freyer 1904, Risel 1905).

Béclère, Chambon und Ménard gewannen ein Serum mit deutlicher „action antivirulente" von kutan geimpften Menschen, Pferden und Kälbern, von subkutan vaccinierten Pferden, von intravenös vaccinierten Kälbern und Kaninchen und von variolisierten Affen. Nach den genannten Autoren ist das Serum thermostabil, sehr resistent gegen Fäulnisprozesse sowie Einwirkung von Sonnenlicht, dialysiert nicht gegen Wasser und haftet an den Globulinen.

Affen (Macacus cynomolgus), die mit 1:10 verdünnter Lymphe mehrmals in gleichen Zeiträumen subkutan behandelt worden sind, lieferten ein Serum vom 13. Tage ab, das nach 26 Tagen das Virus vollständig abgetötet hatte. Die abtötende Kraft des Serums nahm 41 Tage nach der Impfung wiederum ab. Das Serum wurde inaktiviert, mit Komplement versetzt und durch 24 Stunden mit einem gleichen Volumen von Lymphe unter öfterem Umschütteln im Eisschranke in Kontakt gehalten. Die Impfungen wurden an Malayenkindern unter Leitung von Nordhoek Heght in Batavia ausgeführt.

Süpfle vaccinierte kutan, subkutan und intravenös Kaninchen und prüfte ihr Serum. „Bei den einzelnen Versuchen schwankte der Titer des viruliciden Vermögens

in weiten Grenzen, ja gelegentlich waren überhaupt keine viruliciden Körper nachweisbar." Immerhin „gewann Süpfle den Eindruck, daß auch die Wirkungsweise der im Serum auftretenden viruliciden Vaccineimmunkörper, ähnlich wie die der baktericiden Immunkörper, sich aus zwei Komponenten zusammensetzt, aus einer thermostabilen und einer thermolabilen Gruppe — aus Amboceptor und Komplement". Bei kutan geimpften Affen und Kaninchen kommt man bezüglich der viruliciden Kraft des Serums zu ganz ungleichmäßigen Resultaten, ähnlich lauten die Ergebnisse von Versuchen von Yamamoto, der Kaninchen auch intraperitoneal und intrapulmonal vaccinierte. Der Mangel einer Reinkultur, die schwankende Wirksamkeit des Immunserums, die Verschiedenheiten der Lymphe erschweren das Arbeiten in diesem Sinne ungemein, zumal wir bei unseren Schlüssen nur an den schwankenden Ausfall der Pustelbildung eventuell der Produktion der Vaccinekörperchen angewiesen sind.

Für die Praxis ist diese Serumimmunität bedeutungslos. Eine allgemeine Hautimmunität kann nur auf aktivem Immunisierungswege erreicht werden. Auf die wichtigen leider von Biologen bis jetzt zu wenig berücksichtigten Erscheinungen der Allergie bei der Revaccination kann, da sie zuweit in das Gebiet der Klinik und Immunitätslehre führen, in einem Handbuch der pathogenen Protozoen nicht eingegangen werden; es sei auf die Studie von C. v. Pirquet (Klinische Studien über Vaccination und vaccinale Allergie, Deuticke 1907) verwiesen.

Jenner hatte bereits eine gewisse Vererblichkeit der Vaccineimmunität vermutet und Versuche in diesem Sinne haben Wolff, Behm, Béclère, Chambon und Ménard ausgeführt, ohne zu bestimmten Resultaten zu gelangen. Süpfle (Centralbl. f. Bakt. Org. LIV, 1910) stellte diesbezügliche Experimente an Kaninchen an, aus denen hervorging, „daß die Nachkommen vaccine-immuner Kaninchen in der Mehrzahl der Fälle keine nachweisbare Immunität gegen Vaccine besitzen. Bei einem kleinen Prozentsatz ist jedoch eine Beeinflussung der Disposition im Sinne der Vererbung einer partiellen Immunität unverkennbar".

Variola.

Von

S. von Prowazek.

1. Historisches über die Pockenkrankheit.

Der Name „Variola" ist entweder als Diminutivum des Wortes „Varus" der Knoten aufzufassen oder nach anderen Erklärungen aus dem Griechischen *αἰόλος* (variegatus gefleckt) abzuleiten; man findet diese Bezeichnung bereits in den Handschriften des 9. Jahrhunderts. Mehr im modernen Sinne des Wortes wird dieser Terminus von Constantinus Africanus um die Mitte des 11. Jahrhunderts gebraucht. Die ersten ärztlichen Dokumente über die Pocken verdanken wir den arabischen Ärzten Abu Jakub Ben Ischaac und Muhamed Ben Rhazes, welch letzterer Forscher Constantinus Africanus wesentlich in seiner Auffassung von der Pockenerkrankung beeinflußt hatte.

Unzweifelhaft war aber in Indien und China diese Seuche bereits lange Zeit *vor Christi Geburt* bekannt.

Gregor von Tours (Krause, Über das Alter der Menschenpocken usw., Hannover 1825; die Angaben von Procopius scheinen aus verschiedenen Gründen zweifelhaft zu sein) beschreibt 581 n. Chr. Geb. im südlichen Europa eine Variolaepidemie als Lues cum vesicis, „Morbus dysentericus cum pustulis". Genauere Beschreibungen stammen von Rhazes (ca. 900 n. Chr.), der die Krankheit als eine Art von Gärung des Gewebes im Anschluß an die Studien von Ahron auffaßte. — Eine große Epidemie wütete im Jahre 711 in ganz Europa, die Chronisten des 7. und 10. Jahrhunderts gedenken bereits der Pockenverheerungen in England und Irland und seit dem 12. Jahrhundert verstummen nicht die Berichte über mehr oder minder heftige Epidemien in verschiedenen Teilen Europas. Die ersten Pockenhäuser sind wohl zur Zeit der *Kreuzzüge* in Europa errichtet worden. Über das erste Auftreten der Variola in Deutschland lassen uns die historischen Aufzeichnungen im Stich, fast wäre man auf Grund des Fehlens einer historischen Überlieferung geneigt, anzunehmen, daß die Pockeninvasion nach Deutschland ziemlich spät erfolgte. In England wütete die Seuche besonders um das Jahr 1241 und 1242, die genaueren Berichte über Variolaepidemien in Deutschland stammen aus dem Ende des 15. Jahrhunderts.

Nach Amerika wurden die Pocken 1507 verschleppt, 1520—27 herrschte eine heftige Variolaepidemie in Mexiko und 1520 sollen ihr hier allein $3\frac{1}{2}$ Millionen Menschen erlegen sein. Die späteren Epidemien in Amerika weisen vielfach auf Afrika als ihren Einschleppungsort durch den Sklavenimport hin. In Frankreich starben im 18. Jahrhundert jährlich 30 000 Menschen an Pocken, in England entfielen 7—9% aller Todesfälle auf die Pockenkrankheit.

Die Variolisation wurde in den ältesten Zeiten in China (nach der ersten Urkunde Teota-hinfa) und Indien (Holwell) geübt. Später gelangte die Kenntnis von dieser

Methode nach Kleinasien und Konstantinopel, wo sie Lady Montague, die zuerst 1717 ihren Sohn impfen (variolisieren) ließ, kennen lernte. Um die Variolainokulation haben sich zuerst Maitland und Boylton (Boston), Peverini und seine Frau Marchesa Buffalini, de la Condamine, Tissot, vor allem Gatti Verdienste erworben. Am 14. Mai 1796 führte Jenner seine erste Vaccination aus, 1798 erschien Jenner's erste Publikation über dieses Problem. Ob die Vaccination (nicht Inokulation) bereits früher in Indien bekannt war, ist strittig (Lichtenstein, Casper's Wochenschr. 1841, Ainslie, J. Anderson); nach Alex. v. Humboldt (1803) ist die Vaccination lange Zeit unter mexikanischen Hirten geübt worden. In England, zum Teil in Deutschland war die Schutzkraft der Vaccine bereits zu Beginn des 18. Jahrhunderts unter dem Volke bekannt (Sulzer 1713, Sutton und Fewster 1765 oder 1768, ferner 1778).

2. Historisches über den Erreger.

An dieser Stelle können wegen der außerordentlich umfangreichen Literatur nur die als wichtig erscheinenden Arbeiten angeführt werden.

Die ersten Variolakörperchen (Guarnieri'sche Körperchen der Variola) sah wohl 1874 Carl Weigert (Anatomische Beiträge zur Lehre von den Pocken, Breslau 1874) und bildete sie bereits ab (Fig. 8 Taf. II. „Die kleinen übrigens ziemlich seltenen Körperchen gleichen etwa den Kernen der weißen Blutkörperchen, aber sie sind kleiner, werden niemals von einem besonderen Protoplasmamantel umgeben und finden sich stets nur neben den großen Kernen der Epithelien"). Mit denselben Gebilden beschäftigte sich dann Renaut (Annales de Dermatologie et de Syphilis II, 1881), Pohl-Pincus (Über die Wirkungsweise der Vaccination, Berlin 1882) und van der Loeff (Tijdschrift voor Geneesk. Nr. 46, 1886).

Dann folgen die grundlegenden, außerordentlich wichtigen Untersuchungen von Guarnieri (Arch. per le sc. med. Vol. XIV, 1892) über Citoryctes variolae Guarnieri, ferner die Arbeiten von Pfeiffer (Monatsschrift f. prakt. Dermatologie VI, 1887), Untersuch. üb. den Krebs, Jena, Fischer 1893 u. folg.) und Monti (Ätiologie der Variola, Mitteilungen am XI. internationalen med. Kongreß zu Rom, Bakt. Centralblatt XVI, 1894).

1905 erschien die umstrittene Arbeit von J. Siegel über den Pockenerreger (Anhang zu den Abhandl. der königl. preuß. Akademie d. Wissenschaften 1905).

Im ärztlichen Verein in Hamburg demonstrierte Paschen am 11. Juni 1907 Ausstriche von Variola, in denen eine große Menge kleiner, zum Teil sich teilender Körperchen zu sehen war.

Diese Körperchen sind kleiner als die bei Vaccine von Prowazek beschriebenen Initialkörperchen (Arb. a. dem k. Gesundheitsamte 1905 XXXII), jedoch nach Volpino (R. Accademia di Medicina d. Torino, 22. novembre 1907 und Revista di Igiene e di sanità pub. XVIII, 1907) größer ($\frac{1}{2}$ μ) als die von ihm beobachteten Gebilde, die sich „mit großer Lebhaftigkeit" bewegen, von geradezu „extremer" Kleinheit sind und im Gegensatz zu Paschen im Protoplasma der Zellen vorkommen. Die Untersuchungen von Volpino beziehen sich auf das Vaccinevirus. 1908 gelang es Prowazek und Aragaõ durch eine neue Filtrationsmethode in allen untersuchten Variolafällen die Erreger darzustellen und zum Teil sie durch die Filtration zu isolieren (Münch. med. Wochenschrift No. 44, 1908 und Memorias do Instituto Oswaldo Cruz Agosto 1909). — Schließlich sei auf die zusammenfassende Arbeit von Casagrandi (Annali d'igiene sperimentale, Vol. XX, Fasc. 1, 1910) hingewiesen; der Autor weist eingehend die Filtrierbarkeit des Virus nach, beschreibt kleinste, im Dunkelfeld sichtbare, bewegliche Körperchen, als Erreger der

Variola, die auch e n d o p l a s m a t i s c h vorkommen, sich vermehren, in großer Menge auftreten, gleiche (1—2 Zehntel μ) Größe und runde Gestalt besitzen.

CASAGRANDI hält sie nicht identisch mit den Körperchen von PASCHEN, TERNI und TANON. Bei seinen Untersuchungen über den Citoryctes kommt er zu dem Schluß, daß das Virus auch im Kern vorkommt, daß der Citoryctes absolut für die Variolavaccine spezifisch ist, keinen hellen Hof besitzt, sowie, daß er eine E n t w i c k l u n g durchmacht. Die kleinen Körperchen vermitteln nach CASAGRANDI die Infektion und sind filtrierbar, im Citoryctes kommen C y s t e n k ö r p e r und K ö r p e r m i t e i n e m A n h a n g (corpuscoli a spillo) als Entwicklungsstadien vor. Repräsentanten des „asexuellen Cyklus" sind die erstgenannten Elementarkörper, während die letzteren Körper (corpi a spillo) den sexuellen Cyklus bilden. CASAGRANDI tritt für die E n t w i c k l u n g des Virus ein und folgt so den Ideengängen der amerikanischen Forscher TYZZER, CALKINS u. a. Den komplizierten Entwicklungscyklus, den CALKINS aufgestellt hatte, konnte CASAGRANDI allerdings nicht bestätigen.

3. Wesen und Biologie des Variolaerregers.

Der Erreger der Variola ist ein sehr kleiner, während des Lebens mäßig lichtbrechender, im Dunkelfeld aufleuchtender, runder Mikroorganismus (*Chlamydozoon variolae*) dessen Größe je nach dem Wachstumsstadium ca. um einige Zehntel μ seltener bis $\frac{1}{2}$ μ variieren kann (Fig. 1, 2, 3). Er führt oszillierende progressive Bewegungen aus, die nach ARAGAÕ und PROWAZEK passiver, nach VOLPINO aktiver Natur sind. Auch CASAGRANDI beschreibt dessen Beweglichkeit. Ich kann die Art der Bewegung von unbelebten oder toten Suspensioiden wie z. B. durch Atropin und Saponin „abgetöteten" Chromatinkörperchen von *Colpidium* u. a. nicht unterscheiden.

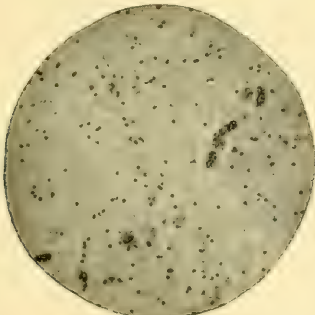


Fig. 1.

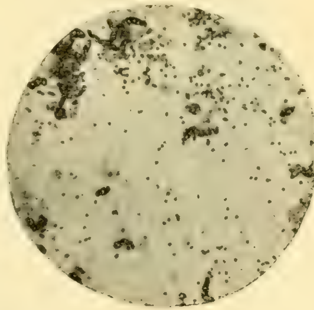


Fig. 2.

Ausstriche aus einem Colloidfiltrat und aus einer Variolapustel. Kleine Körperchen und Streptokokken. Färbung nach LÖFFLER.

Unregelmäßige Bewegungsschwingungen fordert auch die kinetische Theorie der BROWN'schen Bewegung von EINSTEIN und SMOLUCHOWSKI (vgl. die Bilder von SIEDENTOPF, Zeitschrift f. wiss. Mikroskopie, XXVI, Taf. IV, 1909). Lokomotionsorganellen sind bis jetzt n i c h t nachgewiesen worden. Der Erreger passiert in den m e i s t e n Fällen (sofern er nicht von dem Pusteldetritus und der Lymphe zu sehr eingehüllt wird) dicke Papierfilter, Asbest-, BERKEFELD- und UHLENHUTH-Filter, wird aber von den sogenannten Kolloidfiltern zurückgehalten. Nach BRINCKERHOFF und TYZZER wird das Virus der Variolalymphe durch BERKEFELD-Filter N zurückgehalten. CASAGRANDI filtrierte das Virus durch BERKEFELD W. CHAMBERLAND F und B,

durch Kitasato, Silberschmidt- und Maassen-Filter. Nach Analogie der Filtrationsversuche bei der Hühnerpest wurde von Prowazek und Aragaõ das Virus (verdünnter Pustelinhalt) durch 3%ige Agar-Agarschichten auf folgende Weise filtriert: Ein mit physiologischer Kochsalzlösung benetzter Filterpapiertrichter wurde mit Hilfe eines Platinkonus in einen kleinen Glastrichter dicht durch Ansaugen mit einer Wasserstrahlpumpe eingefügt, dann 3—4 mal mit Agar (3%) derart durchtränkt, daß die Substanz überall den Papierrand überdeckte und an der Basis einen kleinen Agarschichtkegel bildete. Der Agar muß den Papiertrichter gleichmäßig durchtränken und lückenlos bedecken. Bei der Durchtränkung verfährt man derart, daß der noch flüssige Agar aus dem Trichter, den man in horizontaler Lage rotiert, hinausgegossen und der geringe Rest des Kolloids in einer dünnen Schichte erstarren gelassen wird. Hernach filtriert man das verdünnte Pustelmaterial unter mäßigem Druck in 1—3 Stunden unter Kontrolle hindurch. Die Kolloidgallerte darf bei diesem Verfahren nie ganz trocken werden, da sie sich leicht spaltet. Der Belag des Agarkegels wird

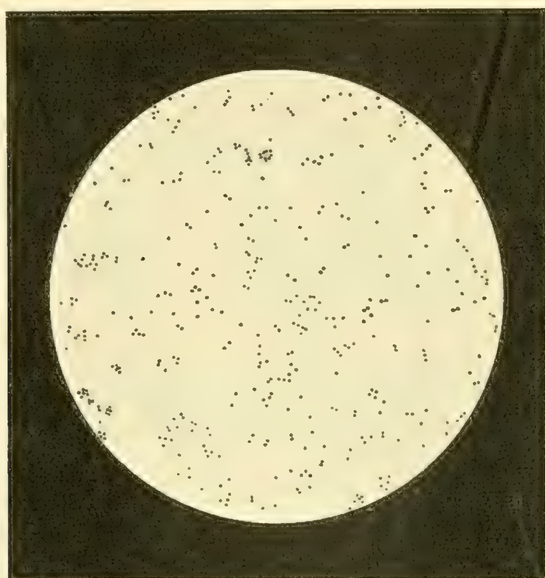


Fig. 3. Variolaelementarkörperchen (identisch mit Elementarkörperchen der Vaccine) Original Löffler's Geißelfärbung.

mit der Platinöse zu Ausstrichen verarbeitet. Die getrockneten Ausstriche legt man für einige Zeit in Aqua destillata, um sie von den Serumresten noch zu befreien, trocknet sie in senkrechter Lage, fixiert sie in Alcohol absolutus (mehrere Stunden) und färbt sie entweder nach Giemsa (1 Tropfen Eosinazur auf 1 ccm Aqua dest. mehrere Stunden) oder mit Löffler's Geißelbeize und Anilinfuchsin (Fig. 3). Die Chlamydozoen färben sich nicht nach Gram, nehmen jedoch die Färbung mit Fuchsin nach Ziehl und mit Thionin an. Im Gegensatz zu den Streptokokken und den Kernen der Leukocyten färben sie sich nicht mit Neutralrot und Brillantkresylblau. Durch Berkefeld-Filtration kann man das vorher gut verdünnte, durch mäßiges Zentrifugieren von den groben Beimengungen befreite Material von den übrigen größeren nicht filtrierbaren Mikroorganismen säubern und es sodann auf einem Kolloidschichtfilter anreichern. Diese Methode eignet sich vielleicht zu einer Reindarstellung der Vaccine. Die Firma Lautenschläger (Berlin) hat zwei größere ineinander

geschobene Filter konstruiert; der äußere größere Filter wird sorgfältig mit der kontinuierlichen Kolloidschichte (Agar, Collodium) ausgegossen. Versuche mit diesen auch für andere Zwecke geeigneten Ultrafiltern sind noch nicht abgeschlossen, jedenfalls muß man sehr lange Zeit filtrieren bis das Material sicher durch die beiden ineinander geschachtelten Filter hindurch gedrungen ist. Die Ultrafiltrate sind nicht mehr infektiös; auf die Kaninchencornea verimpft, erzeugen sie keine GUARNIERI'schen Körperchen, auch zeigten Kaninchen die mit diesem Material subkutan in Intervallen von 4 Tagen 3 mal mit je 2 ccm behandelt worden sind, keine Krankheitserscheinungen, erwiesen sich aber bei folgenden Impfungen als nicht immun.

Das Virus vermehrt sich durch eine Zweiteilung in Diploform. Die Körperchen spalten sich aber im Gegensatz zu den Bakterien nicht in zwei Teile (Bohnenform) sondern schnüren sich allmählich hantelförmig ein. Durch etwa 20 stündige Einwirkung von 1% Saponin, Galle, taurochol- und ölsaures Natrium wird das Virus abgetötet, mit Lezithin (Marke Agfa 1%) durch ¾ Stunden in der Wasserzentrifuge zentrifugiert und etwa 4 Stunden einer Sedimentation überlassen, erzeugt das derart behandelte Material auf der Kaninchencornea nur eine geringe lokale Reaktion.

Die Infektion erfolgt durch mehr oder weniger innigen Kontakt mit Produkten aus Variolapusteln (Geräte, Kleider, Wäsche, zum geringsten Teil vielleicht Insekten usw.). Fliegen als Verbreiter des Virus hat bereits SACHS (Hufeland's Journal 1834) beschuldigt. TERNI (1907) gibt an, daß er durch Verreibungen mit Fliegen aus variolainfizierten Räumen Variolapusteln erzeugen und aus dem Darm der Fliegen einen Impfstoff darstellen konnte. Nach TERNI soll auch *Stomoxys* von Tier zu Tier Vaccine übertragen; er konnte auch im Darm der Fliegen die eigenartigen von ihm beschriebenen Körperchen nachweisen (Centralbl. f. Bakt. Bd. 50). A. MERK konnte diese Beobachtungen nicht bestätigen (Hygienische Rundschau 1910). Einzelne Autoren (BIDENKAMP und KLAUMANN, Norsk. Magaz. Bd. 3, 1881) nehmen an, daß der Variolaerreger durch Wind bis auf 6 m Entfernung verschleppt werden kann, WAWRINSKY (Arch. f. Hygiene, Bd. 8) und andere geben sogar 170 m Distanz an. — Nach CURSCHMANN beträgt die Inkubation, d. h. die Zeit zwischen der Infektion und dem Ausbruch des ersten Fiebers in Übereinstimmung mit mehreren Autoren 10—13, seltener 14 Tage oder aber 8—10 Tage, einmal 5 Tage. Nach PFEIFFER entsteht in dieser Zeit die allerdings nicht immer gesehene, zum Zeil hypothetische Protopustel (Mutterpustel zu vergleichen mit Masterpox der Variola inoculata), ihre Inkubation selbst ist unbekannt, bei der Variola inoculata beträgt sie drei Tage. Die „Protopustel" kann auch von einer diffusen Schleimhautaffektion allein dargestellt werden. Charakteristisch für sie ist der Besitz von GUARNIERI'schen Körperchen. Der Pockenerreger muß von hier aus während und am Ende des ersten Fieberanfalles zunächst im Blutkreislauf, wenn auch nur für eine kurze Zeit, zirkulieren.

Übertragungen durch Blut werden von älteren Autoren vielfach geleugnet. Nach CURSCHMANN ist es ZÜLZER gelungen, mit dem Blute eines Variolapatienten einen Affen zu infizieren, dagegen blieb die Infektion aus, wenn er Affen Pockenschorfe schlucken ließ.

Nach MONTI (Centralbl. f. Bakt. XVI. Bd. 1894) ist für die Kaninchencornea das Herzblut von Pockenleichen nicht infektiös, dagegen Haut-, Lunge-, Larynx-, Rückenmark- und Testikelpreßsäfte. Negativ verliefen die Impfungen mit Niere, Milz, Hirn und Leber. PROWAZEK und ARAGAÕ verimpften wiederholt Blut, Blutserum, Extrakte von Milz, Niere und Leber von konfluierender oder hämorrhagischer Variola auf die rasierte Bauchhaut von Kaninchen oder jedesmal auf mehrere Kaninchencorneae in großer Menge mit zweifelhaften oder zumeist negativen Resultaten. In einem Falle von Blutimpfung eines hämorrhagischen Falles auf zwei



Kaninchencorneae und Bauchhaut wurden nach 6 Tagen verspätet in der einen Kaninchencornea im Schnitt Guarnieri'sche Körperchen nachgewiesen.

Infektionen während des Uterinlebens scheinen seltener auf dem Wege des Blutkreislaufes stattzufinden, als vielmehr durch direkten Kontakt vermittelt zu werden. Für eine Permeabilität des graviden Uterus in bezug auf das Variolavirus sprechen die Beobachtungen von V. Ungaro (Rassegna d'Ostetricia e Ginecologia 1908 Napoli). Im vierten Monat sind beim Embryo bereits Pocken beobachtet worden (nach Jobart im dritten Monat), Curschmann stellte sie im fünften Monat fest. Kinder sollen nach den Angaben der älteren Autoren in den ersten Monaten eine geringere Disposition besitzen. Es sind auch Fälle bekannt, wo die Mutter keine sichtbaren Pocken besaß und doch der Fötus an Variola erkrankte; in diesem Falle übernahm die immune Mutter die Rolle eines Durchgangsorganismus.

Aragaõ und Prowazek konnten mit dem Leberextrakt eines Fötus, dessen Mutter an Variola confluens gestorben war, positive Impfungen mit Nachweis der Guranieri'schen Körperchen vornehmen.

Alle diese Versuche und Beobachtungen sprechen dafür, daß eine Generalisation des Variolavirus durch die Blutbahn zu einer gewissen Zeit stattfinden muß und daß das Kreisen des Virus wohl um die Zeit des ersten Fieberanfalles, der durch die Giftstoffe des Chlamydozoons ausgelöst wird, ungefähr aufhört. Wie wir später sehen werden, ist das Variolavirus vornehmlich ein Hautorganvirus im Sinne von Lipschütz und macht seine endgültige, noch nicht vollkommen bekannte Entwicklung in den kutanen Organbezirken durch. — Viele Autoren führen im gewissen Gegensatz zu der oben vorgetragenen Anschauung aus, daß die Antigene des kreisenden Virus den Fieberanfall hervorrufen. „Das Fieber ist der Ausdruck der Resorption eines Parasitenabkömmlings von der Protopustel aus ins Blut" (Huguenin). Systematische Blutimpfungen verknüpft mit den entsprechenden Serumversuchen können diese Frage erst vollends zur Entscheidung bringen.

Nach 2—3 Fiebertagen machen sich die ersten Anzeichen eines Exanthems zuerst im Gesichte und dann auf den Extremitäten bemerkbar. Zwischen den sich ausbildenden Pusteln treten noch neue auf, als ob nach und nach die Variolakeime aus der Blutbahn in das Hautorgan einwandern und hier ihre zweite Art von Zerstörung beginnen würden. Mit Schwierigkeiten ist die Beantwortung der Frage verknüpft, was das Virus veranlaßt, ungefähr vom 10. Tage ab sich in dem Hautorgan festzusetzen und hier die bekannten Knötchen und Pusteln zu erzeugen. Es existieren zunächst zwei Anschauungen, die sich mit der Erklärung dieses eigenartigen Phänomens beschäftigen:

Die ältere Anschauung rührt von Pfeiffer her: „Wir betrachten das Exanthem als eine embolische Hauterkrankung, entstehend durch die mechanisch im Kapillargebiet hängen gebliebene Amöboidbrut des Parasiten."

v. Pirquet nimmt dagegen in der oben zitierten Schrift an, „daß die Embolien unter Wirkung von Agglutininen zustande kommen".

Gegen die Annahme einer Agglutination haben Kraus und Sternberg geltend gemacht, daß ein derartiger Vorgang in den Körpersäften nicht zustande kommt, Pirquet meint dagegen, daß im Kapillargebiet doch noch etwas Derartiges möglich wäre. Wiederholt habe ich Versuche über die Agglutination dieser kleinsten Gebilde angestellt, von der Voraussetzung ausgehend, daß die Haufen der Körnchen, nach Giemsa oder Löffler gefärbt, deutlicher sichtbar sein werden und man bezüglich der Morphologie des Virus zu neuen weiteren Resultaten gelangen wird — obzwar die Methode der Darstellung kombiniert mit der Filtration unter Anwendung verschiedener Sera (12, 14, 15, 20, 24, 30 und 40 Tagen) mannigfach variiert wurde, gelangte ich zu keinem eindeutigen Resultate. In den Präparaten, die die Körperchen

in sehr deutlicher Weise gefärbt zur Schau trugen, wurde nur auf einzelnen Stellen eine geringe, ziemlich lockere Haufenbildung beobachtet, die nicht einmal mit den häufig in Abstrichen auftretenden Agglomeraten bei Taubenpocke zu vergleichen ist.

Schließlich könnte man sich auch vorstellen, daß das Virus, das zuerst im Blute zirkuliert, später eine andere Entwicklungsphase erreicht und von da ab als reiner Zellparasit sich weiter entwickelt.

Für diese letztere Annahme würde teilweise unsere Beobachtung sprechen, daß die Impfung mit Blut eines hämorrhagischen Falles erst verspätet nach 6 Tagen in der Kaninchencornea die bekannte Reaktion ausgelöst hatte.

Die Gegner der Annahme verschiedener Entwicklungsstadien können sich aber wiederum auf die Beobachtungen von Nourney, Knöpfelmacher und von Pirquet stützen, deren Versuche es wahrscheinlich gemacht haben, daß die Inkubationszeit von der Intensität der Infektion abhängig ist. Der Mangel an Antikörpern in der Blutbahn spricht auch für einen Mangel an Virus im Kreislauf und auf diese Weise erklärt sich die verspätete Reaktion des oben besprochenen Falles viel ungezwungener.

Am einfachsten kann man wohl das Auftreten des Exanthems auf die mechanische Retention des Virus in der Kapillarsphäre zurückführen, das sekundär allerdings zum Zwecke einer weiteren Entwicklung in die Zellen der Haut einwandern muß. Die ausführlichsten pathologisch-anatomischen Untersuchungen über das weitere Schicksal des Variolavirus in den Hautorganen verdanken wir nächst Auspitz und Basch (Virch. Arch. Bd. 28) Weigert, der bereits annahm, daß das Pockengift durch das Blut in die Haut importiert wird.

Er untersuchte besonders das dem ersten Stadium der Pockeneffloreszenz — der umschriebenen Rötung — sich anschließende Stadium der Knötchen- oder Papelbildung. Die Papeln enthalten im Inneren bereits mit seröser Flüssigkeit angefüllte Hohlräume. In der untersten Schichte des Rete Malpighii findet man Massen von degenerierten zum Teil „kernlosen" Zellen, die dem Tode geweiht sind. Die Zellen zerfallen aber nicht, sondern verwandeln sich in schollige Massen von derber Konsistenz. „Sehr viel Ähnlichkeit hat die vorliegende Form der Degeneration mit der von Wagner bei der Diphtherie beschriebenen Epithelentartung. Die Degenerationsform soll daher im folgenden mit dem Namen der „diphtheroiden" bezeichnet werden." Die diphtheroide Entartung beginnt immer an der Bindegewebsgrenze. Faßt Weigert die Primäraffektion als eine nekrobiotische und diphtheroide Entartung auf, so sind Auspitz, Basch, Unna, Touton, Buri u. a. geneigt, selbe auf entzündliche Prozesse zurückzuführen. Nach Unna und Buri unterliegen die Epidermiszellen teilweise einer retikulierenden (höhere Regionen der Stachelschichte) und ballonierenden Degeneration (Unna-Pockengrund) und erzeugen auf diese Weise das für die Variolapustel typische histologische Bild. Über den diphtheroiden Herden befindet sich in der mittleren Schicht der Pocke eine seröse Flüssigkeitsansammlung in verschiedenen kleineren, kommunizierenden Hohlräumen.

In den Präparaten nimmt man hier gerinnselige Granulationen und Fibrinfäden wahr. Im Laufe der Zeit nehmen die Hohlräume an Menge und Ausdehnung zu und werden von einem unregelmäßigen Netz- und Balkenwerk getragen. „Das Netzwerk muß aus Zellen der mittleren Schicht des Rete Malpighii hervorgegangen sein. — Das Netzwerk besteht ferner aus totem Zellmaterial." Die Flüssigkeit der Hohlräume enthält nach Weigert das Pockengift und erzeugt direkt Gewebsnekrosen, die zu derben, resistenten Massen umgewandelt werden. Sekundär erzeugt durch Kompression die sich ausbreitende Flüssigkeit, die aber auch „in das Innere der Zellen eindringen" soll, mechanisch die Netz- und Balkenbildung. Manche der komprimierten Zellen verhornen außerdem. Gegner der Ansicht von Weigert nehmen

an, daß die primären entzündlichen Exsudate sekundär die parenchymatös entarteten Stachelzellen komprimieren und zu dem zentralen Gerüst umwandeln. Für die Pockenbildung sind ferner noch Wucherungserscheinungen an den benachbarten geschwellten Zellen der diphtheroiden Herde von großer Bedeutung.

Wie bei einigen anderen Chlamydozoenerkrankungen (Vaccine, Taubenpocke, Trachom), kann man in der Nachbarschaft unter Einfluß einer sekundären Reizwirkung verschiedene Proliferationsprozesse (Mitosen, zum Teil auch Amitosen) nachweisen. Die Dellenbildung der Pocke ist demnach einerseits auf das Vorhandensein des diphtheroiden Balken- und Netzwerkes (Weigert) in der Mitte der Delle, andererseits auf die Proliferationsprozesse in dem benachbarten, nicht so entarteten Zellwall, der eine Erhöhung der Seitenwände bedingt, zurückzuführen. Der tiefste Punkt der Delle entspricht dem diphtheroiden Hauptherd, mit dem er durch Netzbalken in Zusammenhang steht (Weigert). Als dritte Folge der Reizwirkung betrachtet Weigert im Anschluß an die diphtheroide Entartung und die seitliche Proliferation die Eiterung. Später sterben die Eiterkörperchen ebenso die durch die Hohlräume getrennten Epithelien ab, und es bilden sich schorfartige Massen, die zur Abstoßung gelangen. Die Eintrocknung beginnt in der Mitte, die von einer bräunlichen Lage bedeckt ist. Weigert fand bei seinen Untersuchungen bereits Bakterien in Haufen- und Schlauchform vermutlich in Lymphgefäßen, die bei der Variola als synergetische Symbionten eine besondere Rolle spielen.

Wir müssen hier noch die Möglichkeit der Ausbildung einer internen Pocke erörtern. Einige Autoren haben Pocken der Schleimhäute des Magens und Darmes beschrieben, ihre Existenz wird von Curschmann und Huguenin geleugnet. Weigert (Anatom. Beiträge zur Lehre von den Pocken II. Teil 1874/5) hat pockenähnliche Gebilde im Parenchym der Leber, Milz und Niere gefunden. Die befallenen Zellen verändern zuerst ihre Kerne, die ihre Färbbarkeit einbüßen. später verwandeln sich die Zellen in amorphe Massen, in deren Zentrum meist Bakterienhaufen lagern. Auch Pfeiffer rechnet die nekrotischen Herde der Milz, Leber und Niere zu echten Pockenbildungen.

Huguenin verhält sich allen diesen Angaben skeptisch gegenüber. In neuerer Zeit haben Councilmann, Margrath und Brinckerhoff analoge Veränderungen beschrieben, die Keysselitz und Mayer in der Leber und Lunge histologisch und zytologisch genauer untersucht haben. In den Herden fanden sie neben einer Ansammlung von seröser Flüssigkeit rote Blutkörperchen, polynucleäre Leukocyten, einige Eosinophile und mononucleäre, ferner aus degenerierenden Leberzellen hervorgegangene Schollen und Zelldetritus. In den Zellen findet man Einschlüsse, die sich mit dem Borrel'schen Gemisch rot färben. Councilmann, Margrath und Brinckerhoff halten die Gebilde für nicht spezifisch, Mayer und Keysselitz sind geneigt sie den spezifischen Reaktionsprodukten, den Guarnieri'schen Körperchen der Epithelzellen der Variolapustel gleichzusetzen — in bezug auf die Vaccinekörper der Kaninchencornea machen sie auf einige Unterschiede aufmerksam. Auch in den Zellkernen sind mitunter sehr große, charakteristische Einschlüsse beobachtet worden.

Man kann aber nicht mit Sicherheit entscheiden, „ob auch alle Einschlüsse des Kernes, die in den verschiedensten Größen auftreten, als Guarnieri'sche Körper aufzufassen sind". „Die Körper bestehen gleichfalls aus Plastin und Chromatin, wie die färberischen Eigenschaften zeigen." Die Kerneinschlüsse liegen in der Regel nackt im Kern und sind vielfach von einem hellen Hof umgeben. Sie können nicht in allen Fällen die vergrößerten Nucleolen sein. Da die Impfungen mit Preßsäften aus den inneren Organen im allgemeinen negativ ausgefallen sind, kann man die erwähnten Gebilde vielleicht nur als Reaktionsprodukte auf die Giftstoffe des Virus auffassen, sie äußern sich vornehmlich in einer Hyperplasie der Plastinsubstanzen und

können zum Teil auf eine Metagenese der Nucleolarstoffe zurückgeführt werden. Dieser Erklärung kann allerdings wieder entgegengehalten werden, daß im allgemeinen bei einer Impfung mit abgetöteter Lymphe in der Kaninchencornea nicht derartige Bildungen auftreten. Wichtig ist ferner die Beobachtung von Keysselitz und Mayer, daß auch im Plasma der Endothelien „vereinzelte in der Regel klein bleibende Guarnieri'sche Körperchen meist ohne hellen Hof“ nachgewiesen worden sind. Cytoryctes in den Endothelzellen haben auch Brinckerhoff und Tyzzer beobachtet.

Auf das Verhalten der Endothelien bei Chlamydozoenerkrankungen ist leider bis jetzt noch wenig geachtet worden. — In der Epithelzelle der Hautpocke kommen die bekannten bei der Vaccine bereits genauer beschriebenen Guarnieri'schen Körperchen vor. Sie sind bei der Variola zuerst von Weigert und Monti beobachtet und in der Folgezeit von einer großen Anzahl von Forschern genau untersucht worden. Sie bestehen aus einer Plastin- und Chromatinkomponente und treten zuweilen auch im Kern auf (Councilmann, Calkins, Ross, Schrumpf, Casagrandi, Prowazek u. a.). Bosc beschrieb sowohl die intranucleären als auch interplasmatischen Körper als Plasmodium variolae und faßte die Gebilde im Protoplasma als Schizogonie, die im Zellkern als Sporogonie eines Parasiten auf. Einen komplizierten Entwicklungszyklus eines Parasiten beschrieb auf Grund des Studiums dieser beiden Formen Calkin's, dessen Beobachtungen von Casagrandi aber nicht bestätigt worden sind. Schrumpf hält die von Bosc und Councilmann geschilderten Gebilde für Degenerationsprodukte. Siegel schreibt über diesen komplizierten Entwicklungszyklus: „Aber das Material, welches benutzt wurde, war menschliches Leichenmaterial und daher schon mancherlei zersetzenden Einflüssen ausgesetzt, ehe man es präparierte; und alle Autoren, auch der Mitarbeiter an demselben Sammelwerke Tyzzer, bestätigen sonst ausnahmslos, daß bei Benutzung frischen Materials Veränderungen im Kerne nicht beobachtet wurden.“ Allerdings findet man oft Vergrößerungen der Nucleolen und auch Süpfle hat an den Kernen der befallenen Zellen Veränderungen beobachtet.

Die Akten über diese Frage sind noch nicht geschlossen; ich konnte mich von einer besonderen intranuclearen Entwicklung eines Parasiten in einwandfreier Weise nicht überzeugen. — Einigemale sah ich sowohl in den Epithelzellen der Pocke als auch in den Corneazellen der Kaninchen nach einer künstlichen Überimpfung größere, hantelförmig sich teilende Gebilde, die als Entwicklungsstadien der früher beschriebenen Elementarkörperchen (veget. Stadium) zu deuten sind. Nach Analogie zur Vaccine sind sie Initialkörper genannt worden. Die Guarnieri'schen Körper, die auch die Initialkörper umhüllen können, sind aber selbst nicht die Parasiten der Variola, sondern wurden in Übereinstimmung mit Foa, Paschen, Keysselitz, Mayer u. a. als Reaktionsprodukte der Zelle auf die Virusinvasion aufgefaßt. Mit diesen Bemerkungen soll aber durchaus nicht die Möglichkeit eines Entwicklungscyklus geleugnet werden. Wir kennen bereits die intraplasmatisch und selten intranucleär auftretenden Initialkörper, wir kennen die ersten Stadien der Guarnieri'schen Körper, die im Zentrum ein initialähnliches Korn mit einem helleren Saum und blauen kappenartigen Massen besitzen, wir kennen einige spätere Evolutionsphasen im Guarnieri'schen Körperchen. Das Endprodukt der Entwicklung sind wohl die in ungeheueren Mengen intra- und extracellulär auftretenden Elementarkörperchen (Fig. 4). Sie treten am reichlichsten in der destruierten Pustel auf, sind filtrierbar und sehr resistent. Casagrandi unterscheidet einen asexuellen Entwicklungscyklus, dargestellt durch die Vermehrung der kleinen Elementarkörperchen und eine sexuelle Phase der Entwicklung, gebildet von Körperchen mit Anhängen (corpi a spillo), die im Guarnieri'schen Körperchen vorkommen. Mir erscheint es wahrscheinlicher, daß die Elementarkörperchen am Schluß der Entwicklung auftreten. Auch beim Trachom treten zuerst die Initialkörper auf, die die Einschlüsse produzieren,

indem zentral von einem Restkörper die Elementarkörnchen absprossen, während an der Peripherie noch die Initialkörper nachweisbar sind. Es ist unzweckmäßig diese Entwicklung, die den Charakter eines Dimorphismus zur Schau trägt, mit der Entwicklung der Protozoen zu vergleichen und mit den Termini „Schizogonie" „Sporogonie" usw. zu bezeichnen; sexuelle Erscheinungen sind bis jetzt nicht bekannt.

Man kann die Guarnieri'schen Körper der Variola nach einer Fixierung mit Sublimat, Sublimatalkohol, Formol, Flemming's Gemisch, Hermann's Gemisch, Perennyi'scher Flüssigkeit u. a. m. mit Grenacher's und Ehrlich's Hämatoxylin mit Eosinnachfärbung, mit Heidenhain's Eisenhämatoxylin (Bordeauxrot oder Orangenachfärbung) mit Mallory oder Borrel's Gemisch (siehe Vaccine) färben. Zu ihrer Darstellung eignen sich auch andere Methoden, die in der histologischen Technik sonst gebräuchlich sind. Die Variolachlamydozoen kann man im Pockenschnitt am besten nach Sublimatalkoholfixierung nach Giemsa 6—12 Stunden färben, im dest. Wasser abwaschen, rasch 60% Aceton, Aceton pur., Xylol, Cedernöl (Fig. 4). Auch die neue Methode von Giemsa dürfte sich vielleicht für ihre Darstellung eignen.

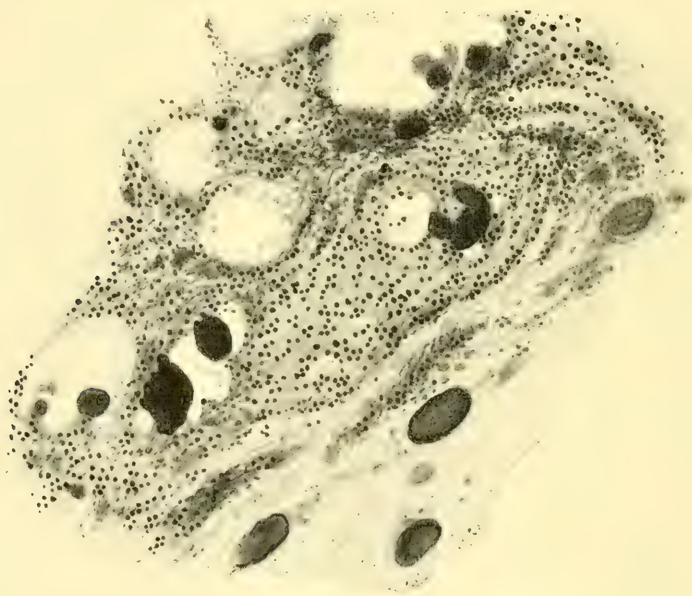


Fig. 4. Schnitt durch eine Variolapustel; neue Giemsa-Methode, Homog. Immersion $^1/_{12}$, Okular 6. Gezeichnet in der Höhe des Objektisches von H. Stender. (Präparat von Dr. Jamamoto).

Sobald der Pustelinhalt in einen Eiterzustand übergeht, beginnt zum zweiten Male ein Fieberzustand, der während der Eruption der Pocken eine Minderung erfahren hatte, sich bemerkbar zu machen. Er wird als Febris secundaria oder suppurativa — Eiterungsfieber — bezeichnet. Pfeiffer leitet die Ursache für dieses „zweite Fieber" aus einer zweiten Parasitengeneration ab, die aus den Pusteln abermals ins Blut eintritt. „Die Immunisierung ist noch nicht vollendet. — Einige Tage lang sind die Giftstoffe wieder imstande, im Blute schädlich zu werden" (Huguenin). Pfeiffer betont zugunsten seiner Hypothese, daß das Fieber oft auch bereits vor der Eiterung der Pockenpusteln einsetzt und daß es bezüglich der Erscheinungen (Kopf-, Kreuzschmerz, Delirien usw.) vollkommen dem primären Fieber

gleicht. Daß VAN DER LOEFF seine Variloaprotozoen in diesem Stadium auch im Blute fand, dürfte jetzt nicht mehr von großer Bedeutung für die Beurteilung dieser Frage sein. Ob das Blut in diesem Stadium überhaupt noch infektiös ist, ist bis jetzt gar nicht experimentell nachgewiesen und scheint nach dem ganzen Sachverhalt unwahrscheinlich zu sein. Die Annahme, daß Toxine von synergetischen Streptokokken (vgl. Scharlach und Streptokokken) die auslösende Ursache dieses zweiten Fiebers sein durften, hat mehr Wahrscheinlichkeitsgründe für sich.

Diese Symbionten sind wohl zuerst von GLUGE 1838 als kleine, glänzende, zu Ketten vereinigte Körperchen bei der Variola beobachtet worden. KEBER (Virch. Archiv 42) und F. COHN (Virch. Archiv Bd. 55) haben dieselben Kettenbakterien untersucht, die der Aufmerksamkeit von KLEBS (Handbuch d. patholog. Anatomie) und ERISMANN (Sitzungsberichte d. k. Akad. d. Wissenschaften, Math.-nat. Klasse 1868) nicht entgangen sind.

Für die Wirksamkeit der Bakterientoxine bei der Variola spricht folgender Versuch: Impft man Variolavirus und aktives Serum (Komplement — es ist gleichgültig ob man Menschen-, Pferde-, Vaccine oder Variolaserum nimmt) und Streptokokken (lebend oder bei 60° C abgetötet) auf die Kaninchencornea, so bekommt man im Verhältnis zu allen entsprechenden Kontrollimpfungen äußerst stürmische Reaktionen (weitgehende Epithelverluste, Leukocytose, tiefe Erosionen), die auf die Rechnung Variolavirus (Toxin), Streptokokkentoxinen und eines thermolabilen Serumbestandteils zu setzen sind. WAELE und E. SUGG (Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Therap. Bd. XIII) wiesen auch nach, daß der Streptococcus variola-vaccinalis von dem Serum des Kranken agglutiniert wird. — Schließlich fand WEIGERT im allerersten Stadium der Pocken „in Leber, Milz, Lymphdrüsen und Nieren Schläuche von Zoogleamassen".

Von der Variola werden Menschen ohne Unterschied des Geschlechts und Alters befallen. Beobachtungen von Unterschieden in bezug auf die Rasse liegen nur insofern vor, als die fragliche Rasse eventuell gewisse Reste von Immunität vererbt erhielt und durch frühere Epidemien gleichsam variolisiert war. Für eine gewisse Vererbung der Immunität sprechen die jüngsten Beobachtungen SÜPFLE's bei der Vaccine.

Es gibt aber auch eine angeborene Resistenz der Variolainfektion gegenüber, der sich bereits MORGAGNI, BOERHAVE und DIEMERBROCK gerühmt haben. Diesbezügliche Beobachtungen sind auch in den Schriften ROSENSTEIN's, GATTI's, THURSFIELD's, LEREBOULLET's, BÜCHNER's und HUGUENIN's niedergelegt.

4. Variola der Versuchstiere.

Variolaimpfungen an Affen (Orang-Utan) haben W. BRINCKERHOFF und E. TYZZER ausgeführt und fanden ausgedehnte Veränderungen in der Cutis und im subkutanen Bindegewebe; außerdem konstatierten sie intranucleäre Cytoryctes.

Bei wiederholten Passagen durch den Affenorganismus hat das Variolavirus die Neigung auszusterben, vor allem geht rasch die Fähigkeit der Exanthembildung verloren.

Über Impfungen an Rinder, Kaninchen usw. siehe das Kapitel „Vaccine".

5. Immunität bei Variola.

Das Überstehen der Variola verleiht im allgemeinen einen mehr oder weniger langandauernden Schutz, der von der Schwere der Erkrankung abhängig ist. Es sind

aber auch viele Fälle bekannt, wo der Mensch mehrfach von Pocken befallen worden ist. Einer historischen Berühmtheit erfreut sich der Fall von Ludwig XV., der im 14. Jahr an Variola erkrankte und im 64. Lebensjahr dieser Krankheit zum Opfer fiel. Cantani kannte eine Frau, die siebenmal an Pocken erkrankte, ja es sind Familien mit besonderer Empfänglichkeit für wiederholte Variolaerkrankungen bekannt (Variolaüberempfindlichkeit als neue Eigenschaft).

Da die Variola wesentlich eine Erkrankung des Hautorgans ist, so handelt es sich bei ihr vornehmlich um eine histogene Immunität, die natürlich eine gewisse Serumimmunität nicht ausschließt. Letztere entsteht sogar wahrscheinlich vor der Hautimmunität. Beclère, Chambon und Ménard konnten im Serum am 4. und 6. Krankheitstage keine antiviruliciden Stoffe, die am 20. und 27. Tage vorhanden waren, nachweisen. Sie fanden Immunkörper im Blut nach 25, einmal nach 50 Jahren, während sie in anderen Fällen bereits nach wenigen Tagen verschwunden waren.

Prowazek und Aragaõ untersuchten Rekonvaleszentenserum von 12, 14, 15, 20, 24, 30 und 40 Tagen nach dem Abheilen der Pusteln, indem sie gleiche Mengen von Variolapustelinhalt 20—24 Stunden mit dem Serum im Eisschrank stehen ließen und nach wiederholtem Durchschütteln die Kaninchencornea impften und die Immunität nach dem Guarnieri'schen Phänomen prüften. In allen Fällen allerdings in schwankenden Mengenverhältnissen waren Guarnieri'sche Körper nachweisbar, deren Ausbeute nach der Einwirkung des 12 Tage-Serums am geringsten war. Es scheinen also im Serum doch gewisse viruliclde Stoffe vorhanden zu sein, die das in der ersten Zeit kreisende Virus produziert; zur Zeit des ersten Fieberanfalles werden die spärlichen viruliciden Stoffe teilweise wirksam, wobei die Endotoxine frei werden und das klinisch bekannte Bild der Pockenkrankheit mit ihrem ersten Fieber erzeugen. Die übrigen Contagiumträger machen dann ihre Entwicklung im Hautorgan durch, wo eine histogene Immunität zustande kommt. Bei vollkommener Immunisierung werden die folgenden Virusträger im Hautorgan aufgelöst und die Endotoxine können das Phänomen der Überempfindlichkeit (Allergie) auslösen.

Um zu einem abschließenden Urteil über die Variolaimmunität zu gelangen, müßte man das Serum von Beginn des Fieberanfalles prüfen, sowie die Allergiephänomene bei der Variola noch eingehender studieren. Über diese Problem gibt das wichtige Buch v. Pirquet, Klinische Studien über Vaccination und vaccinale Allergie, Wien 1907, Aufschluß. Keysselitz und Mayer (Archiv f. Schiffs- und Tropenhygiene 1908) erhielten bei 6 in Rekonvaleszenz befindlichen Negern bei der Prüfung der Überempfindlichkeit negative Resultate. Mit der Methode der Komplementfixation konnten Casagrandi, Beintker und Sugai im Serum Antikörper nachweisen, während Moses und Bettencourt im allgemeinen zu negativen Ergebnissen gelangt sind (Memorias d. Inst. Oswaldo Cruz Rio d. Janeiro 1909).

Literatur über Variola-Vaccine.

Zusammenfassende Literaturlisten bringen die Arbeiten von Huguenin, Hückel, Süpfle, Wasielewski, Foa, Casagrandi und Prowazek (I 1905), eine Literaturliste über Immunität bringt die Studie von Süpfle. Auch in den mit * bezeichneten Arbeiten finden sich Literaturnachweise. Selbst bei oberflächlicher Orientierung müssen die Arbeiten von Huguenin, Hückel, Foa, Casagrandi und Süpfle Berücksichtigung finden und daher wurde

von einer nochmaligen Zitierung der dort angeführten Arbeiten im allgemeinen abgesehen.

ALDERSHOFF, H. u. BEVERS, C. M., Annales de l'Institut Pasteur 1906.
*ARNDT, Studien zur Immunität und Morphologie bei Vaccine. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XLVII. 1908.
BERMBACH, Untersuchungen über den Impfschutz usw. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XLIV.
BOSC, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIX.
CALMETTE et GUÉRIN, Recherches sur la Vaccine expérim. Ann. de l'Institut Pasteur 1901.
CAMUS, Journ. d. Physiol. et Pathol. 1908.
CARINI, Beitrag z. Kenntnis der Filtrierbarkeit des Vaccinevirus. Centralbl. f. Bakt. Bd. XLII.
CASAGRANDI, O., Studi sul Vaccino Unione Tipografico-ed. Torinese 1906.
Derselbe, Sulla presenza del virus vaccinico etc. Società t. i cult. d. scienze mediche e naturali in Cagliari. 18. Febr. 1909.
Derselbe, Annali d'igiene sperimentale 1906.
CHAUVEAU, Nature du virus vaccin. Compt. rend. de l'académie des sciences. LXVI. 1868.
*FOA, A., I Cytoryctes Vaccinae. Archives de Parasitologie. VII. 1903.
FROSCH, P., Bericht der Kommission zur Prüfung der Impfstofffrage. Berlin J. Springer 1896.
*HUGUENIN, G., Pocken. Ergebnisse der Allgem. Pathologie. Herausgeg. v. LUBARSCH-OSTERTAG. 4. Jahrg. 1897.
*HÜCKEL, Die Vaccinekörperchen. Beiträge z. patholog. Anatomie. 2. Supplementheft 1898.
*IMMERMANN, H., Variola. Spez. Pathologie u. Therapie. Herausgeg. v. H. NOTHNAGEL. Wien 1896. Hölder.
JÜRGENS, Die diagnostische Bedeutung der Variolakörperchen. Berlin. klin. Wochenschr. 1905.
KELSCH, Revue d'Hygiene e de Police sanit. XXX. 1908.
KEYSSELITZ, G. u. MAYER, M., Über Empfindlichkeitsprüfungen bei Variola usw. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene. Bd. XII. 1908.
Dieselben, Über Zellveränderungen in inneren Organen bei Variola. Beihefte z. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene 1909.
KRAUS u. VOLK, Weitere Studien über Immunität usw. Wiener klin. Wochenschrift. XIX. 1906.
Dieselben, Studien über die Immunität gegen Variolavaccine. Sitzber. d. kaiserl. Akademie der Wissenschaften. Wien. Mathem.-naturw. Klasse CXVI. 1907.
LICHERI, Annali d'igiene sperimentale. XIX. 1909.
MAGRATH, G. B. and BRINKERHOFF, W. R., On experimental Variola in the Monkey. Studies on the Pathology and on the etiology of Variola and of Vaccinia. Boston 1904.
MERK, A., Vaccine und Fliegen. Hygienische Rundschau 1910.
*MÜHLENS und HARTMANN, Zur Kenntnis des Vaccineerregers. Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI. 1906.
OHLY, Über die Lebensfähigkeit des Vaccinevirus im Kaninchenkörper. Inaug.-Diss. Marburg 1906.
PASCHEN, Über das Auftreten der Vaccinekörperchen bei Revaccination. Hygienische Rundschau 1905.
*Derselbe, Was wissen wir über den Vaccineerreger. Münch. med. Wochenschrift 1906.
*Derselbe, Der Träger des Contagiums der Variola u. d. Vaccine. Archiv f. Kinderheilkunde. Bd. XLVII. Heft 1/3.
Derselbe, Medizinalstat. Mitteilungen des Kais. Gesundheitsamtes 1903.
Derselbe, Über die EWING'sche Klatschmethode usw. Münch. med. Wochenschr. S 2004. 1909.
*VON PIRQUET, Klinische Studien über Vaccination. Leipzig-Wien, F. Deuticke. 1907.
POWER, Brit. med. journ. II. 1906. S. 604.
*PROWAZEK, Untersuchungen über die Vaccine I, II, III. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXII. 1905. Bd. XXIII. 1906. Bd. XXVI. 1907.
PROWAZEK, S. u. DE BEAUREPAIRE ARAGAO, Weitere Untersuchungen über Chlamydozoen. Münchener med. Wochenschr. Nr. 13. 1909.

Prowazek, S. u. de Beaurepaire Aragao, Estudos sobre a Variola. Memorias d › Instituto Oswaldo Cruz. 1909. Tomo I. Taciculo II.
Prowazek u. Yamamoto, Experim. u. morpholog. Studien über das Vaccinevirus. Münch. med. Wochenschr. Nr. 51. 1909.
Siegel, Unters. über d. Ätiologie der Pocken usw. Medizinische Klinik. 1905.
Sugai, Über den Komplementbindungsversuch bei Variola usw. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XLIV.
*Süpfle, K., Die Vaccineimmunität. Archiv f. Hygiene. Bd. LXVIII. 1909.
*Derselbe, Die Vererb. d. Vaccineimmunität. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. LIV. 1910.
*Derselbe, Beiträge zur Kenntnis d. Vaccinekörperchen. C. Winter, Heidelberg 1905.
Tyzzer, Journ. of med. research. Vol. XIV. Nr. 12.
Ungaro, Sulla Permeabilità d. Utero gravido ai virus filt etc. Rassegna d'Ostetricia e Ginecologia 1908.
*Wasielewski, Beiträge z. Kenntnis des Vaccineerregers. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten 1901. Bd. XXXVIII.
Volpino, G., Corpuscoli mobili etc. Rivista d'igiene e di sanità publ. XVIII. 1907.
Derselbe, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLVI. 1908.
Derselbe, Über die Beweglichkeit der Körperchen der Vaccine u. der Pocken. Münch. med. Wochenschr. 1909.
Derselbe, Weitere Beobachtungen über Vaccinevirus. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. 1909.
Weigert, C., Anatomische Beiträge z. Lehre von den Pocken. Breslau 1874. I. T.
Xylander, Die Komplementbindungsreaktion usw. Centralbl. f. Bakt. Bd. LI. 1909.

Virus myxomatosum.

Von

S. v. Prowazek.

Diese Seuche tritt bei Kaninchen zunächst unter Erscheinungen einer katarrhalischen Blepharo-Conjunctivitis mit bedeutender Schwellung der Augenlider auf. Später machen sich am Kopf Veränderungen bemerkbar. „Maul und Nase verdicken sich so sehr, daß sie ein löwenartiges Aussehen annehmen“ (Sanarelli). Im ganzen zeigen die Kaninchen „außer den über die ganze Körperoberfläche zerstreuten neoplastischen Tumoren einen hyperplastischen Vorgang in allen Organen an der Stelle, wo das Hautgewebe in die Schleimhaut übergeht“.

Das Virus untersuchte zuerst Sanarelli (Centralbl. f. Bakteriologie XXIII Bd. Nr. 20 1898) und gelangte zu folgenden Resultaten:

Das Virus ist mit dem Blut, Augensekret und den Tumorfragmenten auf subkutanem, intravenösem, gastrischem und intraokularen Wege übertragbar. Bei der okularen Infektion treten am fünften Tage die ersten Erscheinungen auf, spätestens am 9. Tage sterben die Tiere. Bei den auf subkutanem und gastrischem Wege infizierten Kaninchen ist das Blut nach 48 Stunden virulent, bei den intravenös infizierten Tieren nach 24 Stunden. „Das optisch vollkommen reine und gänzlich sterile Serum besitzt dieselbe Infektionskraft.“

Das Virus büßt im Laufe der Zeit oder durch eine Erwärmung auf 55° C die Virulenz ein; dagegen ist es ziemlich resistent gegen eine Einwirkung von 3% Borsäure, 2% Phenylsäure, 1‰ Sublimat, 5% Formylaldehyd und 2‰ übermangansaurem Kali. Mäuse, Meerschweinchen, Affen und Vögel sind gegen das Virus refraktär. Sanarelli ist es niemals gelungen Kaninchen gegen das myxomatöse Virus zu immunisieren.

Dieselbe Krankheit untersuchte später Splendore (Centralbl. f. Bakt. I. Orig. XLVIII 1909). Nach diesem Autor sterben die Tiere am 4. oder 5. Tage nach der Infektion. Auffallend ist die Vergrößerung der Lymphfollikel der verschiedenen Regionen.

Das Virus ist durch Chamberland-Kerzen nicht filtrierbar. In den Epithelzellen der Abstriche, die oft sehr hypertrophisch waren, fand Splendore chlamydozoenähnliche Einschlüsse, die größer sind als die bei Trachom beschriebenen, dagegen sind die Elementarkörperchen nach Präparaten von Carini und Aragao ungemein fein „staubförmig“.

Erreger von anderen exanthematischen Krankheiten.

1. Schafpocke-Ovine (sheep-pox, clavelée)

ist eine Seuche der Schafe, die den Züchtereien sehr gefährlich wird (über 25% Todesfälle). Nach einem 8—9 tägigen Inkubationsstadium treten Fiebererscheinungen auf

und dann ein papulös-vesikulöses Exanthem, das dem Variolaexanthem etwas ähnlich ist. Um die Erforschung des Clavelée hatte sich Borrel (Annales de l'inst. Pasteur 1903) besondere Verdienste erworben. Er wies nach, daß das Virus Chamberland-Kerzen F^4 und F^6 passiert. Von mehreren Autoren sind Einschlüsse in den Zellen analog den Guarnieri'schen Körperchen beschrieben worden (vgl. besonders Bosc Centralbl. f. Bakt. XXXIV 1903).

Paschen studierte sie auf Grund der Klatschmethode von Ewing und faßt sie als Reaktionsprodukte auf das Virus auf (Münch. med. Wochenschrift 1909), Borrel hat in den Annales de l'Institut Pasteur 1903 Tafel V Fig. 9 die kleinsten Virusstadien abgebildet. Bezüglich der Erreger der Ovine stellte Paschen im ärztlichen Verein Hamburg 1909 Präparate aus. „Als Träger des Virus möchte Ref. kleinste Körperchen ansehen, die er an verdünnten Ausstrichen von Ovine mit Löffler'scher Beize und nach Giemsa darstellen konnte. Dieselben sind mit den vom Ref. vor 1½ Jahren im ärztlichen Verein demonstrierten Körperchen in nach Löffler gefärbten Ausstrichen von Variola und Kinderlymphe identisch."

Das einmalige Überstehen der Pockenkrankheit verleiht den Tieren Immunität und es sind auf Grund dieser Tatsachen mehrere Immunisierungsmethoden ausgearbeitet worden. Bekannt ist das Verfahren von Borrel, der von einem Gemisch von 10 ccm Impflymphe und 500 ccm Kochsalzlösung viele Schafe in der Bauchgegend unter die Haut infizierte; vom 4. Tag ab tritt an der infizierten Stelle eine Infiltration auf, die am 8. Tag samt dem serös infiltrierten Gewebe in einer Kochsalzlösung verrieben und so zu Impfzwecken verwendet wird. Das Virus ist in Verdünnungen von $^1/_{20000}$ noch wirksam.

Kossew hat das Virus durch 15 Ziegenpassagen abgeschwächt und erhielt so ein fixes Virus, das sich für Immunisierungsversuche eignet. 1902 hat Borrel im Anschluß an Beobachtungen von Buclert (1896) eine Methode der Serumtherapie ausgearbeitet, die im wesentlichen auf einer gleichzeitigen Anwendung von verdünnter Lymphe und Immunserum beruht.

Auch Bosc gibt an, daß sowohl dem Serum als auch dem defibrinierten Blut von schwer pockenkranken, hyperinfizierten Lämmern immunisierende Eigenschaften zukommen.

Aus allen diesen Beobachtungen, die durch die Untersuchungen von Poenaru (Archiva vet. 1904) noch ergänzt werden, geht zur Genüge hervor, daß neben einer histogenen Immunität auch eine erhebliche Serumimmunität im Gegensatz zur Variola-Vaccine besteht und zwar ist sie so stark, daß sie sich für praktische Immunisierungszwecke eignet.

2. Varicellen.

Von neueren Arbeiten zur Ätiologie der Varicellen kommen zunächst die Arbeiten von Tyzzer (The Philippine Journal of science Vol. I 1906), G. Keysselitz und M. Mayer sowie Bertarelli in Betracht. Tyzzer untersuchte die ballonierende Degeneration bei den Varicellen pathologisch-anatomisch genauer und fand sowohl nucleäre Einschlüsse von 1—6 μ Größe als auch cytoplasmatische 4 μ große Gebilde mit einem zentralen Granulum. Er gelangte bezüglich der Einschlüsse zu keiner bestimmten Vorstellung. Der Arbeit ist eine farbige Tafel mit Abbildungen dieser Formen beigegeben.

Keysselitz und Mayer (Archiv f. Protistenkunde 14. Bd. 1909) fanden in zirkumskripten Stellen des Stratum germinativum besondere „Varicellakörper" im Protoplasma der Zelle. Sie treten an beliebigen Stellen im Zellplasma oft 15 an der Zahl auf und besitzen die Größe von $^1/_5$—9 μ. Im Inneren ist oft ein dichtes strukturiertes rundliches Element feststellbar. Die Körper nehmen oft Hantelgestalt an. Die Körperchen werden als Reaktionsprodukte der Zelle auf das Eindringen des Varicellavirus

angesehen; an ihrem Aufbau sind, wie aus dem färberischen Verhalten hervorgeht, hauptsächlich Plastinsubstanzen beteiligt.

Eine Art von Initialkörperchen ist gleichfalls beschrieben worden (S. 117).

Bertarelli (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. L 1909) verimpfte varicellöses Material auf die Kaninchencornea und fand in den tiefer liegenden Zellen des Hornhautepithels zwischen Kern und Zellbasis feine, mit Eisenhämatoxylin färbbare Körnchen, die von einem hellen Hofe umgeben waren. „Bemerkenswert ist, daß sie auch an Stellen erscheinen, wo die Reaktion des Gewebes eine negative ist." Sie treten nicht konstant auf und sind selten.

Ähnliche Gebilde hatte Arndt beobachtet. Varicellaimpfungen an die Kaninchenhornhaut hatte Tyzzer (Med. Records 1907) mit negativem Resultat vorgenommen; derartige Impfungen sind zu differentialdiagnostischen Zwecken zum Unterschied von Variola-Vaccine von Jürgens, Paschen, Aldershoff empfohlen worden.

3. Scharlach.

Bei dieser Krankheit beschrieb Mallory (Journal of Med. Research Vol. X Nr. 4 1904 und Vol. XIII Nr. 4 1905) unter dem Namen Cyclasterion scarlatinae eigenartige Einschlüsse in den Epithelzellen und bildete sie auch auf mikrophotographischem Wege ab.

Es sind zunächst granulöse Gebilde, die später eine alveolär-netzartige Struktur erlangen und unter dem Bilde einer „Chrysantheme" zerfallen, indem zentral ein Restkörper sichtbar wird (Fig. 1).

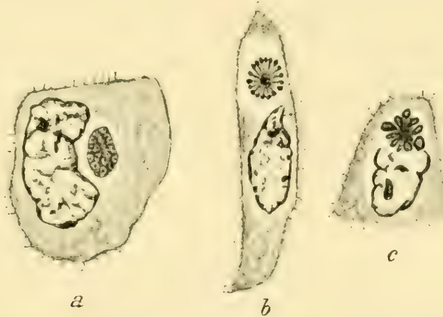


Fig. 1. Mallory's Scharlachkörperchen. Bei b Chrysanthemenform (nach Mallory).

Ähnliche Gebilde beobachteten Duval (1905) und Prowazek (Archiv f. Protistenkunde X. Bd. 1907), letzterer beschrieb auch freie Stadien.

Gamalaia (Berliner klin. Wochenschr. Nr. 40 1908 45. Bd.) beschreibt einen Entwicklungscyklus, der von einer Myositisform ausgeht und eigenartige Kolonien bildet. Es ist noch unsicher, wieweit diese Formen mit den von Mallory entdeckten übereinstimmen.

In Präparaten sah ich neben dem Kern in Alveolen, die den Kern sogar eindellten, Einschlüsse sowie unter dem Epithel in der Nähe der Kapillaren in einer Art von Lymphspalten blaß färbbare, räumliche Gebilde von verschiedener Größe.

Der Vollständigkeit wegen sei auf die Arbeit von J. Siegel, „Untersuchungen über die Ätiologie des Scharlachs" (Abhandl. d. königl. preuß. Akademie der Wissenschaften 1905) verwiesen. Siegel findet im Blute von Scharlachkranken sowie im Blute von geimpften Kaninchen Protozoen — bewegliche zweikernige Cytorhyctes —, die auch in den Hautschuppen von Scharlachkranken auftreten.

Gelbsucht (Polyederkrankheit) der Raupen.

Von

S. v. Prowazek.

Diese Krankheit tritt vornehmlich in den Zuchtanstalten für Seidenraupen auf, ist aber auch bei der so gefährlichen und volkswirtschaftlich wichtigen Nonne (*Lymantria monacha* L.) beobachtet worden.

Die Seidenraupe wird besonders zur Zeit der Spinnreife von dieser Krankheit befallen. Die erkrankten Raupen legen eine Unlust zum Fressen an den Tag und es treten sogenannte Spätlingsraupen auf. die die regelmäßigen Schlaf- und Häutungsperioden nicht mehr entsprechend durchmachen. Unstet wandern die kranken Raupen in der Hürde herum, die Haut ist opak, glänzend (Glanzraupen, luisettes) und der Leib ist aufgedunsen.

Die Haut ist wenig resistent und bei der leisesten Berührung entstehen Risse und Wunden, aus denen das gelblich gefärbte Blut reichlich hervorquillt. Daher nennen die Italiener diese Raupen vacca (Milchkuh). — Der Raupenleib nimmt mit der Zeit eine grellgelbe Farbe an (Gelbsucht) und da er bedeutend angeschwollen ist, nennt man die Raupen auch Fettraupen (Fettsucht). Die hervorquellende Blutflüssigkeit büßt beim Eintrocknen ihre gelbe Farbe ein und wird mit der Zeit schwarz, so daß die Spinnhütte mit schwarzbraunen Flecken, die den Infektionsstoff in sich bergen, besudelt wird. Die Raupenkadaver bleiben an den Halmen der Hütte hängen und trocknen zu schwarzen oft zerrissenen Gebilden zusammen. Falls sich die Raupe doch noch eingepuppt hatte, sieht die Seidenraupenpuppe braun aus, ist wenig resistent und zergeht oft in eine braune Flüssigkeit.

Die von der Polyederkrankheit befallenen Nonnenraupen kriechen scharenweise vor ihrem Tode am Stamme aufwärts und drängen sich an den Wipfeln der Bäume zu oft großen Klumpen zusammen.[1]) Bei der Nonne nennt man daher diese Krankheit auch Wipfelkrankheit oder Flacherie, von ihr hat B. Wahl ein anschauliches Bild entworfen. Von dieser Polyederkrankheit werden nicht bloß Raupen und Puppen, sondern auch Falter befallen. Bolle gibt an, daß es ihm gelungen ist, mit dem Blute gelbsüchtiger Seidenraupen gesunde Nonnenraupen zu infizieren.

Pathologisch-anatomisch kann man an den erkrankten Raupen keine tiefgreifenden Veränderungen feststellen — das Fettgewebe ist fettarm, die Anistamembran, die die Nahrung von den Innenwänden des Magens trennt, ist verdickt, mehrschichtig und verstopft oft die Mündung des Dünndarms. Diese Erscheinungen hängen wohl mit der Herabsetzung der Nahrungsaufnahme zusammen. Auffallend ist die Trübung des Blutes, das sehr reichlich aus den gesetzten Wunden hervorsickert.

---

[1]) Art von Wandertrieb, vielleicht ausgelöst durch die Darmenzyme, die nicht verwendet werden, da die kranken Raupen keine Nahrung zu sich nehmen, wie die spinnreifen Raupen.

In dem Blute findet man nun die charakteristischen Bestandteile der Polyederkrankheit — zahllose kleine, lichtbrechende, bei starken Vergrößerungen kristallinisch aussehende Granulationen — die Polyeder. E. Verson wies zum ersten Male ihre Kristallnatur nach, Bolle meinte anfangs, daß sie aus harnsaurem Ammon bestehen, später machte er es wahrscheinlich, daß sie aus einer Eiweißsubstanz gebildet werden. Panebianco sprach sich für die Kristallnatur der Gebilde aus. Die Körperchen sind 3—5 μ groß, bei den Raupen des ersten Alters sind sie kleiner und nehmen später an Größe zu.

Bei oberflächlicher Betrachtung sehen sie wie Fettkügelchen aus, bei genauer mikroskopischer Prüfung kann man sich von ihrem kristallinischen Aufbau überzeugen. Bei der Seidenraupe sind sie rhombendodekaedrisch, seltener findet man hier Deltoiddodekaeder, Oktaeder, Hexaeder und Tetraeder. Bei der Nonne haben sie nach Nitsche, Bolle und Wahl eine Tetraedergestalt, so daß auf Grund dieser Verschiedenheit von einigen Seiten der Ausfall der Infektionsversuche mit Seidenraupengelbsucht bei Nonnenraupen von Bolle in Zweifel gezogen worden ist.

Die Gelbsuchtkörperchen des *Ailanthus*-Spinners (*Attacus cynthia*) haben zumeist die Gestalt von Deltoiddodekaedern, die vom Rizinusspinner (*Antherea Mylitta*) die Form von Tetraedern. Im Allgemeinen scheinen sie alle dem tesseralen I. System anzugehören.

Man findet auch Zwillingskristalle. Bezüglich ihrer Zusammensetzung ist von Bolle, Prowazek und Wahl folgendes festgestellt worden:

Sie sind unlöslich im siedenden Wasser, Schwefelkohlenstoff, Alkohol, Äther, Chloroform, Glycerin, Benzin, Wasserstoffsuperoxyd, Benzol, Saponin und Sapotoxin. Bei Trockenhitze werden sie später braun und schließlich schwarz. In Kaliumkarbonat-, Soda- und Ammoniaklösungen werden sie zunächst gebläht, peripher sondern sich von einer kristallinischen, bald körnig werdenden Substanz kristallinische Platten ab, die nach und nach verschwinden. Durch Eisessig wird das Körperchen gebläht, die kristallinische Substanz ist von Radien nach Art eines Sphärokristalls durchsetzt. Durch Schwefelsäure werden die polyedrischen Körperchen gleichfalls gebläht und es kommt die eigentliche Grundsubstanz mit einer membranartigen Umhüllung zum Vorschein — durch Verschieben des Deckgläschens kann man sie in eine Art von Falten legen. Die Reste der Körperchen werden durch Schwefelsäure, Salpetersäure, Essigsäure ebenso aufgelöst wie durch Alkalien. Mit 1% Natronlauge werden sie zunächst aufgebläht, schmelzen dann aber zusammen. 10% alkoholische Kalilauge löst sie auf. Sie färben sich mit Anilinfarben Fuchsin, Eosin, Erythrosin, Methylgrün, Meteorblau, Gentianablau. Mit Giemsa's Eosinazur gefärbt, färben sie sich je nach ihrem Reifezustand verschieden; diese „Reifezustände" spielen überhaupt bei der chemischen Untersuchung der Körperchen eine große Rolle und trüben oft die Einheitlichkeit der chemischen Bilder. Junge Körperchen verhalten sich anders als alte.

Für die Eiweißnatur der Körperchen sprechen mehr minder folgende Reaktionen: Durch Pikrinsäure werden sie gelb gefärbt, durch Pepsinsalzsäurezusatz (32°) zerfallen sie in einzelne krümelige Körperchen und verschwinden schließlich, sie sind also gegen die Darmsäfte nicht resistent. Mit Jod färben sie sich gelbbraun, Millons' Reaktion fällt positiv aus. Durch Osmium werden sie nicht geschwärzt — ich vermute, daß sie Kristalloide von Nucleoproteiden sind. Nach meinen und den Untersuchungen von Wahl entstehen sie vornehmlich in den geblähten Kernen des Fettgewebes, Hautepithels, der Tracheen und der Blutzellen (Fig. 1). Sie bilden sich in den Kernsaftalveolen, zuweilen liegen ihnen größere Chromatinklumpen kappenartig an. Das Chromatin vereinigt sich in dem vergrößerten Zellkern zu körnigen Gebilden. Oft geraten die degenerierten Zellkerne in die Leibeshöhle und bilden mit ihrem Polyederinhalt die Pseudocysten von Bolle. Der Kern

wird durch die vielen Polyederkörperchen in einen Spannungszustand versetzt, oft reißt die Membran ein und die Körperchen geraten ins Protoplasma. Mit dem Zerfall der Zellen werden die Polyeder frei und man findet sie in der Leibeshöhlenflüssigkeit. Phagocytose ist von Wahl beobachtet worden. Für histologische Zwecke eignet sich eine Konservierung mit Flemming'scher Flüssigkeit oder mit Sublimat-Alkohol nach Schaudinn; für Färbungszwecke ist die neue Giemsa-Färbung oder Eisenhämatoxylin nach Benda zu empfehlen. Außerdem ist die gewöhnliche Blutausstrichmethode geeignet.



Fig. 1. Fettkörperchen mit „Polyedrischen Körperchen" im Kern, Plasma und frei. Ocular 8, homog. Immersion 2 mm.

Aus den bisherigen Untersuchungen geht hervor, daß die fraglichen Gebilde Biokristalloide intranucleären Ursprungs sind. Bolle faßte sie als die Erreger der Gelbsucht auf und nannte sie Microsporidium polyedricum. Außer Bolle haben sich mit dem Studium der Gebilde Cornalia, Maestri, Cecconi, Verson, F. Haberlandt, Forbes, Panebianco, Prowazek und Wahl beschäftigt.

Prowazek, Omori und Wahl fassen die Polyeder nicht als die Erreger, sondern als spezifische Reaktionsprodukte auf das Virus auf. Das Virus dürfte aber insofern eine Ausnahmestellung unter den Chlamydozoen spielen, als die Reaktionsprodukte intranucleär (1) auftreten und kristalloider (2) Natur sind. Bei der Benennung des Virus müßte man auf diese Verhältnisse Rücksicht nehmen; da aber die Natur des Virus noch nicht vollkommen sichergestellt ist, sehe ich vorläufig von einer Namengebung ab. Das Virus muß kleiner sein als die Polyeder, da man mit der filtrierten oder zentrifugierten Leibeshöhlenflüssigkeit, die bei der mikroskopischen Prüfung vollkommen polyederfrei ist, die Krankheit bei derselben Inkubationszeit erzeugen kann. In den so infizierten Raupen treten nach 4—5 Tagen die Polyeder wiederum auf. Als Erreger fasse ich kleinste, rundekokkenartige Körperchen auf, die sich hantelförmig teilen und in den feucht fixierten Präparaten von einem hellen Hof umgeben sind (Schleimhülle oder

Schrumpfungshof entstanden bei der heißen Fixierung?) (Fig. 2). Färbt man die Leibeshöhlenausstriche zuerst mit verdünntem GRENACHER'schen Hämatoxylin und dann mit GIEMSA's Eosinazur, so färben sich die kleinen Gebilde rotviolett oder dunkelblau. OMORI scheint nach einer brieflichen Mitteilung ähnliche Gebilde gesehen zu haben. Im gleichen Sinne nimmt MARZOCCHI eine Entwicklung aus kleinen endonucleären Körperchen an.

Das Virus zeichnet sich durch eine bedeutende Tenacität aus; BOLLE konnte „mit auf Glasplatten vertrocknetem und ein Jahr altem Blute" die Krankheit wieder erzeugen. 4 Jahre altes Virus büßt seine Virulenz ein. Für Infektionsversuche empfiehlt es sich das auf Glasplatten eingetrocknete Virus mit Wasser zu verrühren und entweder auf die zu verfütternden Maulbeerblätter mit einem weichen Pinsel zu verstreichen (Infektion per os[1])) oder mit einer Nadel den sogenannten falschen Raupenfuß oder das dorsale Horn anzustechen und das Virus derart einzubringen (subkutane Infektion). 5—7 Tage nach der Infektion sterben die Raupen an der Gelbsucht. BOLLE konnte auch Puppen künstlich infizieren. WAHL fand infizierte Nonnen f a l t e r. Künstliche Infektion bei Nonnenraupen ist WAHL und FULMEK bis jetzt noch nicht gelungen und man kann vorläufig nicht beurteilen, ob die k ü n s t l i c h e Hervorrufung von Epidemien unter der gefürchteten Nonne in einem Forst sich p r a k t i s c h bewähren wird. Immerhin räumt die n a t ü r l i c h e Infektion unter diesen Forstschädlingen bedeutend auf. „Ich glaube nicht zu optimistisch zu sein, wenn ich behaupte, daß wir auch bei der gegenwärtigen Nonnenkalamität in Böhmen der Polyederkrankheit der Nonne die Errettung weiter Waldstrecken zu verdanken haben" (WAHL). BOLLE hat in Japan beobachtet, daß die parasitischen U j i l a r v e n (*Ugymyia sericaria* R.) sich von den Raupen aus mit der Polyederkrankheit infizieren. Er gibt an, daß die Polyederkrankheit auf *Antherea Yama, Attacus cynthia, Antherea Mylitta, Dermestes lardarius, Anthrenus museorum* und *Musca vomitoria* übertragbar ist. WAHL fand die Polyeder bei einem Bürstenspinner (*Orgyia antiqua* L.). RODENWALD gelang es nicht die Krankheit an *Stegomyia*-Larven zu übertragen, dasselbe gilt nach eigenen Versuchen für die Mehlwurmlarven.

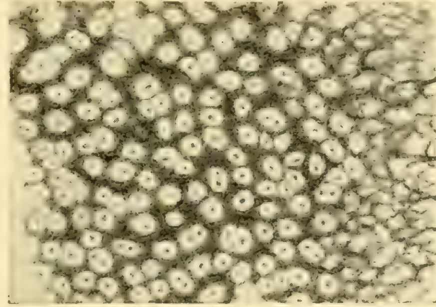


Fig. 2. Vermutliche Erreger der Gelbsucht der Seidenraupen. (Ocular 8, homog. Immersion 2 mm.)

Als prophylaktische Maßnahme gegen die Gelbsucht der Seidenraupen empfiehlt BOLLE sofortiges Entfernen und Verbrennen der ersten gelbsüchtigen Raupen, öfteres Umbetten der Raupen sowie Verbrennen der verseuchten Betten. Im Gegensatz zur P e b r i n e wird im allgemeinen die Polyederkrankheit n i c h t v e r e r b t, da in den meisten Fällen die R a u p e n bereits der Krankheit am 7.—8. Tag erliegen und die in Ausnahmefällen infizierten Schmetterlinge nicht zur Begattung schreiten, oder es verläuft bei ihnen die Krankheit so schwach, daß die Ovarialzellen nicht mit infiziert werden. BOLLE beobachtete in einem derartigen Fall nur eine Infektion der Muskelhüllen des Eierstockes. Es ist bis jetzt nicht bekannt, ob die früh sich differenzierenden Genitalzellen der Raupen überhaupt infiziert werden. Für die Praxis wäre eine eventuell doch vorkommende germinative Übertragung jedenfalls ohne Bedeutung,

[1]) Dabei werden die Polyeder im Magensaft aufgelöst!

da die Gelbsucht im Gegensatz zur Pebrine einen akuten Verlauf nimmt und bereits die Raupen dahinrafft.

In bezug auf die Gelbsucht der Seidenraupen oder der Raupen überhaupt sind nachträglich noch zwei wichtige Arbeiten erschienen.

In einem lesenswerten und ausführlichen Aufsatz behandelt B. Wahl (Über die Polyederkrankheit der Nonne (*Lymantria monacha* L. Centralbl. für das gesamte Forstwesen 1910) die Symptomatologie der von ihm so bezeichneten Polyederkrankheit dieses Forstschädlings und legt unter anderem dar, daß er nie polyederkranke Eier finden konnte, auch lieferten die Versuche über Vererbbarkeit der Gelbsucht keine sicheren positiven Resultate. Wahl betont die große Bedeutung und Wichtigkeit der Polyederkrankheit für die Bekämpfung der Nonne. —

M. Wolf (Über eine neue Krankheit der Raupe von *Bupalus piniarius* L., Mitt. d. Kaiser-Wilhelm-Instituts für Landwirtschaft in Bromberg 2. Heft Bd. III) wies auch bei dem Kiefernspinner die Chlamydozoenkrankheit nach. Wolf konnte die von Prowazek beschriebenen Chlamydozoenkörperchen sowohl bei der Seidenraupe als auch beim Kieferspinner feststellen und unterscheidet nächst dem *Chl. bombycis* Prow. der Seidenraupen ein *Chl. prowazeki* spec. nov. der Nonne, des Kiefernspinners und des Schwammspinners, und ein *Chl. sphingidarum* spec. nov. der Schwärmer. Die von ihnen erregten Krankheiten nennt er Chlamydozoonosen. Zum Teil sind dieselben auch auf die Schmarotzerinsekten ihrer Wirte übertragbar. Die Chlamydozoen kommen ebenso wie bei Variola mit bakteriellen synergetischen Symbionten vergesellschaftet vor.

Beim *Chlamydozoon prowazeki* wird der Zentralkörper länglich-oval kurzstäbchenförmig und teilt sich in Hantelform, zuweilen kommt eine Tetradenteilung vor.

Eine dritte Arbeit von K. Böhm (Zoolog. Anzeiger 22. Bd. XXXV) über die Polyederkrankheit der Sphingiden blieb leider dem Autor unzugänglich. Auch von Böhm werden besondere Chlamydozoen, die größer sind und deren Körper sich intensiv mit Eosin-Azur färbt, beschrieben.

Literatur.

Bolle, J., Atti e memorie dell' i. r. società agraria. Görz 1894.

Derselbe, Der Seidenbau in Japan. Hartleben's Verlag 1898.

Derselbe, Bericht über die Tätigkeit der K. K. landw.-chemischen Versuchsstation in Görz 1902.

Maestri, Frammenti anatomici, fisiologici e patholog. del baco da seta. Pavia 1856.

Marzocchi, V., Sul Parasita d. Giallume etc. Archives d. Parasitologie. T. XII. 1909.

Omori, J., Über die Ätiologie der Gelbsucht usw. Journal of the silk Industry Tokio 1905.

Panebianco, Osservazione sul granuli d. giallume Bollettino mensile di bachicoltura. II. Serie. X. Jahrg.

Prowazek, S., Chlamydozoa. Arch. f. Protistenkunde. 10. Bd. 1907.

Derselbe, Bemerkungen zur Kenntnis der Chlamydozoa. Münch. med. Wochenschr. Nr. 19. 1908.

Verson, E. u. Quajat, E. Il filugello e l'arte serica. Padua 1896.

Wachtl-Kornauth, Beiträge zur Kenntnis der Morphologie, Biologie u. Pathologie der Nonne Mitteil. a. d. forstl. Versuchswesen Österreichs. 16. Heft. 1893.

Wahl, B., Über die Polyederkrankheit der Nonne (*Lymantria monacha* L.). Centralbl. f. d. gesamte Forstwesen. Separatabdruck ohne Jahreszahl 1908?.

SASAKI, (On the Pathology o. th. Jaundice of t. Silkworm, Journ. of t. College o. Agriculture Imp. University. Tokio Vol. II. Nr. 2. 1910) untersuchte neuerdings die Gelbsucht und kommt zu dem Resultat, daß selbe eine Infektionskrankheit ist, die durch die Injektion der „milky fluid" der Raupe übertragen werden kann, jedoch nicht allein an die Existenz der polyedrischen Körperchen im Gegensatz zu BOLLE gebunden ist. Die polyedrischen Körperchen entstehen unzweifelhaft im Kern und sind als eine „Degeneration" aufzufassen, die auch durch andere Schädigungen wie durch eine Unterbrechung der Respiration der Raupe erzeugt werden können. Die polyedrischen Körper sind eine sekundäre Erscheinung der Infektion, sie können aber auch durch Spuren von Formalin, andere Ernährung usw. in den Kernen der Zellen hervorgerufen werden. SASAKI isolierte einen besonderen Streptokokkus. Bezüglich der Entstehung der polyedrischen Körper teilt er im Gegensatz zu OMORI, TAMURA (1905—1906) sowie BOLLE, die von PROWAZEK, WAHL und CONTE-LEVRAT (Les maladies du Ver à soie. La Grasserie. Labor. d' Etudes de la Socie. Vol. XIII 1906—1907) verfochtene Ansicht. Der Arbeit ist eine vollkommene historische Übersicht über die sonst oft schwer zugänglichen Untersuchungen über die Gelbsucht beigefügt.

Samoapocke.

Die Samoapocke ist eine wahrscheinlich mit der Sanagapocke verwandte, durch ein 3—7 tägiges Fieber ausgezeichnete, exanthematische Krankheit. Sie wurde seit etwa 10 Jahren auf den Samoainseln beobachtet. In nach der LÖFFLER'schen Methode gefärbten Ausstrichen des Pustelinhaltes findet man zahllose, etwa 0,2—0,3 μ große Körperchen, die sich in Diploform teilen und kleiner als die Molluscumkörperchen sind. Vital kann man sie mit etwas alkalisiertem Brillantkresylblau (10 ccm NaCl + Messerspitze Farbstoff + einige Tropfen Normalnatronlauge) färben. In den Epithelzellen der Pustelwandung sind bis jetzt keine spezifischen Einschlüsse nachgewiesen worden, dagegen sind die Nucleolen stark vergrößert und die hypertrophischen Zellkerne neigen zur amitotischen Fragmentation. — Die Samoapocke hat mit der echten Pocke nichts zu tun, da eben Geimpfte oder vor längerer Zeit Vaccinierte das milde Exanthem ebenso erwerben wie in keiner Weise vorbehandelte Eingeborene.

Epitheliosis desquamativa conjunctivae der Südsee
(Lyozoon atrophicans).

Von

Dr. A. Leber (Berlin) **Dr. S. v. Prowazek** (Hamburg).

(Nach einer Publikation aus der „Berliner klin. Wochenschrift“ mit nachträglichen Änderungen und Kürzungen.)

Die derzeit auf den Samoainseln herrschende, eigenartige Augenkrankheit ist nach übereinstimmenden Aussagen zuverlässiger, lange Jahre hier ansässiger Ansiedler nicht seit alters her in diesem Inselgebiet heimisch gewesen, vielmehr scheint sie etwa vor 30 Jahren zuerst hier aufgetreten zu sein. Die Aufmerksamkeit weiterer Bevölkerungsschichten ist ungefähr um die Zeit der Masernepidemie 1893 auf sie gelenkt worden. Herr Werner von Bülow bezeichnet für den nördlichen Teil von Savaii die kleine Ortschaft Samauga (sprich: Samaunga) als den Ort, wo diese Augenkrankheit mit besonderer Heftigkeit zum erstenmal in diesem Gebiete aufgetreten ist.

Die Samoaner selbst sind nicht imstande über das Auftreten der seuchenhaften Erkrankung irgendeine befriedigende Auskunft zu erteilen; vielfach wird sie von ihnen als eine Strafe Gottes für die Treulosigkeit und falschen Eide einiger Häuptlinge, für die infolge der eigenartigen kollektivistischen Gesellschaftsordnung der Samoaner die gesamten Ortschaften büßen müssen, aufgefaßt.

Von der Injektiosität des Augenleidens hat die heimische Bevölkerung gar keine Vorstellung. Mehrfach wird die Zunahme der Augenerkrankungen mit dem Vulkanausbruch des Matavanu auf Savaii (August 1905) in einen gewissen Zusammenhang gebracht und Dr. Grevel (26. 12. 1905) schreibt darüber: „Es sind erschreckend viel Leute, namentlich Kinder, an einem fatalen Augenleiden erkrankt; die Samoaner sagen, es komme von den Vulkangasen, und da auch die Tiere davon befallen werden, mögen sie teilweise recht haben; sicher ist aber, daß die Sache auch übertragen werden kann.“ (Neuere Mitteilungen über den Matavanu-Ausbruch auf Savaii von Dr. K. Sapper, Zeitschrift der Gesellschaft für Erdkunde zu Berlin, 1909.)

Krämer (Die Samoainseln 1903, S. 113) betont in seiner zusammenfassenden Schrift über Samoa nur das häufige Auftreten von Augenkrankheiten, ohne näher auf diese Frage einzugehen.

Von ärztlicher Seite ist auf die Gefahren der samoanischen Augenkrankheit zuerst von Dr. Schwesinger, Dr. Franke, Stabsarzt Dr. Poleck, ferner von Exzellenz von Gayl die Aufmerksamkeit gelenkt worden.

Symptome und Verlauf.

Das klinische Bild der vorliegenden Conjunctivalerkrankung wird beherrscht durch die pathologischen Veränderungen, die sich zuerst ausschließlich, später noch vorwiegend im Bindehautepithel abspielen. Da es im Verlauf dieser Vorgänge zu einer ausgesprochenen und für die Erkrankung charakteristischen Desquamation der epithelialen Zellen kommt, scheint uns die Bezeichnung „Epitheliosis desquamativa conjunctivae" den Eigentümlichkeiten der Krankheit gerecht zu werden. Trotz ihrer großen Ähnlichkeit mit dem Trachom, sowohl hinsichtlich ihres klinischen Bildes, wie hinsichtlich ihres ätiologischen Faktors, dürfte die Krankheit eine Sonderstellung einnehmen und eine gesonderte Beziehung rechtfertigen.

Die allerersten Stadien der Erkrankung gelangen verhältnismäßig selten zur Beobachtung; einmal weil der Beginn nur von unerheblichen Reizerscheinungen begleitet ist, ein andermal, weil die Samoaner durch häufiges Tauchen in der See, durch starke Insolation an Reizzustände der Bindehaut gewöhnt sind, so daß sie die Anfänge dieser infektiösen Conjunctivalerkrankung gering veranschlagen. — Immerhin ist ein mehr akuter Anfang wohl die Regel. Wir selbst konnten ihn mehrfach beobachten, und von zuverlässigen Kranken erfuhren wir, daß die Schmerzhaftigkeit manchmal so plötzlich einsetzt, daß Ort und Zeit der Erkrankung angegeben werden können. Über die Dauer der Inkubation vermögen wir bisher keine sicheren Angaben zu machen, da auch die unter unseren Augen vorgekommenen Infektionen keinen Anhalt dafür bieten.

Wie die späteren, so spielen sich auch bereits die allerersten Erscheinungen im Epithel der Conjunctiva ab. Im Gegensatz zum Trachom (Leber und Hartmann, Untersuchungen zur Ätiologie des Trachoms, Klin. Jahrbuch 1909) erscheint in den allermeisten Frühstadien die Conjunctiva palpebralis diffus geschwellt, ohne daß ihre Oberfläche an Glätte und spiegelndem Glanz verloren hätte. Besonders charakteristisch sind im Beginn eine livide Verfärbung, die Ober- und Unterlid gleichmäßig befällt und eine dünnflüssige, nicht sehr reichliche, leicht milchig getrübte Sekretion. Als Ursache dieser Trübung ergibt die mikroskopische Untersuchung einen außerordentlichen Reichtum des Sekretes an epithelialen Zellen, während Leucocyten in diesem Stadium verhältnismäßig selten sind. Den geringen Entzündungserscheinungen entspricht es auch, daß die Präauriculardrüse an dem Prozeß keinen Anteil nimmt und nicht geschwellt ist. — Bemerkenswert ist, daß bei zwei Fällen ganz frischer Erkrankung während der beiden ersten Tage nur je ein zirkumskripter Entzündungsherd der Conjunctiva bestand, der wegen der relativ geringen gleichzeitigen Veränderungen der übrigen Conjunctiva als Primärinfekt aufgefaßt werden mußte. Die Stellen waren über die Umgebung leicht erhaben, von Linsen- bis Kleinbohnengröße und von gelblichgrauer Färbung. Unter der Behandlung verschwanden sie, ohne Spuren zu hinterlassen. Im weiteren Verlauf zeigt sich zuerst die Bindehaut der Lider besonders erkrankt und steht somit im Gegensatz zu der Conjunctiva bulbi, die während des ersten Stadiums nur durch mehr oder weniger starke Injektion an den Entzündungserscheinungen beteiligt ist. Allmählich und gegen Ende des ersten Stadiums (I), dem eigentlichen Stadium der durch die Desquamation ausgezeichneten Entzündung, nimmt die Verdickung der Conjunctiva palpebralis weiterhin zu, ihre Oberfläche verliert die Glätte und gewinnt einen samtartigen bzw. papillären Charakter, der in manchen Fällen durch die livide Verfärbung an das Bild der Frühjahrskatarrhe erinnert. Seltener schreitet diese Hypertrophie so weit fort, daß es zu eigentlichen prominenten folliculären Schwellungen kommt, wie sie bei der Conjunctivitis follicularis beobachtete werden. Diese Erscheinungen sind es offenbar gewesen, die gelegentlich zu der Vermutung geführt

haben, es könne sich hierbei um echtes Trachom handeln. Aber sowohl das Aussehen, die geringe Zahl der Follikel, wie ihre Erhebung über die Umgebung, die Flüchtigkeit ihres Auftretens lassen die Erkrankung von der granulösen Augenentzündung auch in diesem Stadium unterscheiden. Zustände, wie sie z. B. nach fortgesetztem Atropin- und Argentumgebrauch, beim artefiziellen Katarrh der Bindehaut vorkommen, werden insbesondere mehrfach an solchen Augen nachgewiesen, die längere Zeit mit den üblichen Medizinen der Samoaner behandelt worden waren.

Das zweite Stadium der Erkrankung (II), das natürlich nicht mit einem brüsken Übergang an das erste anschließt, ist klinisch im wesentlichen dadurch gekennzeichnet, daß mit seinem Beginn die ersten Reizzustände abklingen. Dem entspricht, daß von diesem Augenblick an die von uns als Virus angesprochenen Einschlüsse in der Conjunctiva verschwinden, daß die charakteristische Desquamation nachläßt, schließlich fast ganz aufhört und daß die Sekretion einen Charakter gewinnt wie bei den bekannten chronischen Katarrhen der Conjunctiva. Nichtsdestoweniger ist ein Stillstand bzw. ein vollkommener Rückgang der krankhaften Erscheinungen zu dieser Zeit nicht allzu häufig, da die Hornhaut gerade am Ende dieses Stadiums Komplikationen besonders häufig ausgesetzt ist. Während auf der Conjunctiva palpebralis sich die ersten Zeichen der Rückbildung des entzündlichen Bindehautzustandes in Gestalt von kleinen atrophischen Herden finden, zeigt sich die Conjunctiva sclerae mehr als zu Beginn injiziert und gelegentlich chemotisch verdickt. Ganz langsam schreitet dann vor allem auf der Lidbindehaut die Atrophie des Epithels vor, die in den meisten Fällen zu einem Zustand führt, der als g l a t t e w e i ß e A t r o p h i e noch nach Jahren die voraufgegangene Entzündung verrät. Sie ist häufig das einzige Residuum der Erkrankung. In einer anderen Reihe von Fällen treten aber, wie schon erwähnt, gerade während des zweiten Stadiums ernste Komplikationen von seiten der Hornhaut auf, die für die epidemiologische Bedeutung der Krankheit maßgebend sind. Es sind das in erster Linie spezifische Geschwüre der Cornea, die ähnlich denen des Trachoms durch ihr diaphanes Aussehen, durch ihren langsamen Verlauf, ihre flächenhafte, wenig in die Tiefe gehende Ausdehnung, ihren leicht aufgeworfenen nicht unterminierten Rand von anderen Geschwüren bakterieller Natur, wie sie im Anschluß an die eigentliche Epitheliose gelegentlich auch vorkommen, zu unterscheiden sind. Ganz allmählich und nur bei fehlender Behandlung greift der geschwürige Zerstörungsprozeß auf die tieferen Schichten der Hornhaut über, die dann nicht selten, gewiß aber häufiger unter dem Einfluß samoanischer Medikation perforiert. Die zahllosen Leucomata adhaerentia, Cornealstaphylome, Bulbusphthisen, wie wir sie überall gesehen, stellen dann die Endstadien dar, unter denen nur ein verhältnismäßig geringer Prozentsatz einem operativen Eingriff zugänglich ist.

Das dritte Stadium (III) ist dasjenige der fortgeschrittenen Atrophie des Conjunctivalepithels. Die atrophischen Prozesse, die während des zweiten Stadiums beginnen und zuerst auf kleinere Bezirke beschränkt bleiben, breiten sich diffus flächenhaft, nicht strangförmig wie beim Trachom über die gesamte Conjunctiva aus. Auf der Lidbindehaut sind sie ausgezeichnet durch die bereits erwähnte glatte weiße Beschaffenheit der Lidinnenfläche, auf der die Gefäße sowohl der Zahl wie dem Kaliber nach eine starke Rückbildung erfahren haben. Dem Lidrand zunächst und diesem parallel verlaufend findet sich nicht selten ein 2—4 mm breiter Streifen, auf dem die Bindehaut, selbst bei endgültiger Veränderung ihrer übrigen Abschnitte, wenig oder gar nicht verändert ist. An den Übergangsfalten kommt die Atrophie in einer Verflachung zum Ausdruck, deren erste Symptome oft schon während des zweiten Stadiums nachweisbar sind in Gestalt kleinster, rippenförmiger Falten, die durch Herabziehen des Unterlides in die Erscheinung treten. Während sich diese spontan oder unter dem Einfluß geeigneter Medikation rückzubilden vermögen, führt der weitere Verlauf der

Erkrankung zu ihrer stärkeren Entwicklung. Dann sieht man Falten, die mehr oder weniger starken Verkürzungen der Epithelschicht entsprechen, entweder in der Tiefe der Übergangsfalte oder — was häufiger ist — auf der Lidinnenfläche nahe am Lidrand ihren Ursprung nehmen und von diesem Ursprung zum Hornhautlimbus ziehen. Da der zur Atrophie führende Prozeß in allen Teilen der Conjunctiva vorkommt, sind seine Residuen dementsprechend auch an den verschiedensten Bezirken anzutreffen, insbesondere aber entsprechend der Horizontalen und im äußeren unteren Quadranten. Weniger häufig ist der innere untere und am seltensten die beiden oberen Quadranten befallen.

Wie wir schon gesehen haben, wird die Hornhaut nicht selten in Mitleidenschaft gezogen, wie es bei einer echten Epitheliose a priori zu erwarten ist. Es scheint aber, daß ihre Epithelien der Infektion einen stärkeren Widerstand entgegensetzen. Charakteristische oft nur sehr kleine und in der Nähe des Limbus lokalisierte Geschwüre treten gewöhnlich erst gegen Ende des zweiten Stadiums auf, während flächenhafte Erkrankungen größerer Strecken des Hornhautepithels erst dem dritten Stadium zukommen und relativ selten sind. In ihrem Verlauf trübt sich die Epithelschicht ganz allmählich — ohne Vaskularisierung — und vermag sich von den tieferen Hornhautschichten derartig abzulösen, daß sie auf der Faserschicht der Cornea in Falten verschieblich ist. In einem Fall aus Savaii, der diese Erscheinungen besonders ausgesprochen zeigte, lag das Hornhautepithel in konzentrischen Falten um das Hornhautcentrum herum, über dem das Epithel zwar auch getrübt aber nicht verschieblich war. Die unter dem Einfluß des Virus an der Zelloberfäche abgeschiedene, weiter unten beschriebene lipoidartige Substanz dürfte mit dieser Erscheinung in ursächlichem Zusammenhang stehen. Besonders ausgesprochen ist sie dort, wo die Bindehautfalten bis an den Limbus heranreichen und hier an eine Stelle erkrankten Hornhautepithels treffen, die somit unter dem Einfluß der Zugwirkung besonders leicht mobilisiert wird. So kommen Veränderungen zustande, die auf den ersten Blick als echte Pterygien imponieren. Daß aber auch echte Pterygien und Pseudopterygien nicht selten sind bei einer Krankheit, die wie die vorliegende mit zahlreichen Primär- und Sekundärinfektionen der Hornhaut einhergeht und zwar an Augen, die durch thermische und mechanische Reize dafür disponiert sind, bedarf kaum einer Erwähnung.

Was die späten Ausgänge der Krankheit anlangt, so werden sie beherrscht von der Tatsache, daß es sich um einen atrophischen Prozeß handelt, bei dem es zu flächenhaften Verkürzungen kommt. Dadurch erklärt es sich, daß zu den Folgezuständen Trichiasis, Entropien und Symblepharon, fast nie Ectropien gehören, deren Bedeutung für das Auge bekannt ist, und deren Vielgestaltigkeit Bilder hervorruft, die ihr Analogon in den späteren Stadien des Trachoms und des Pemphigus haben. Differentialdiagnostisch kommt bei der nosologischen Betrachtung der Krankheit in dem ersten Stadium vor allem Trachom, in den späteren Perioden Pemphigus in Betracht. Es ist das um so mehr zu berücksichtigen, als diese Epitheliose vielleicht eine über die Südsee hinausgehende Verbreitung hat, da wir sie außer auf den samoanischen Inseln Upolu, Savaii, Manono, Apolima, Tutuila auch in Neuseeland bei den Maori und auf den Tongainseln beobachten konnten. Vermutlich ist sie auch auf den Vitiinseln endemisch.

Ätiologie.

Auf Upolu und Savaii, das wir in den Monaten September und Oktober 1910 bereist haben, hatten wir bis jetzt Gelegenheit, 1479 Augenerkrankungen (Savaii 1169, Upolu 310) zu untersuchen, sie größtenteils durch einen längeren Zeitraum hin-

durch zu beobachten und zu behandeln. Soweit es tunlich war, wurden von den uns wichtig erscheinenden Fällen Deckglasabstriche angefertigt, in den meisten Fällen trocken fixiert und in der üblichen Weise nach Giemsa gefärbt: dabei wurde die Methode der nassen Fixierung nach Schaudinn keineswegs außer acht gelassen.

In drei Fällen sind Mischinfektionen mit einem Stäbchenbacillus beobachtet worden, jedoch verschwand dieser bereits nach einer einmaligen Behandlung, wogegen die Einschlüsse noch später nachgewiesen worden sind.

Bei einer Maorifrau aus Neuseeland (Gegend von Rotorua) ist eine Mischinfektion mit einem Diplococcus festgestellt worden.

Da besonders bei den infizierten Kindern gleichzeitig ein Schnupfen bestand und bei einem Maorihäuptling folliculäre Veränderungen am Nasengrund beobachtet wurden, fertigten wir auch Ausstriche von der Nasenschleimhaut an. In den meisten Fällen sind neben größeren Diplokokken haufenweise kleinste Mikroorganismen sowie in den Epithelzellen von dem Maorihäuptling rote Einschlüsse beobachtet worden.

Die erwähnten Einschlüsse sind hauptsächlich in den Stadien der Epitheliosis desquamativa gefunden worden, die wir als Epitheliosis I bezeichnet haben. Die „Einschlüsse" sind den mehrfach beschriebenen, allerdings sehr umstrittenen Einschlüssen des Trachoms ähnlich, und wir stellen sie infolge ihrer Morphologie, Vermehrung und Entwicklung in die Gruppe der Chlamydozoen, die zwischen den niedrigst organisierten Protozoen und Schizomyceten stehen. Aus diesem Grunde wenden wir auch die von der Trachomforschung her bekannte Terminologie bezüglich der verschiedenen Differenzierungen der Einschlüsse an und setzen Bezeichnungen wie „Initialkörper", „Restkörper" und „Elementarkörper" als bekannt voraus. Morphologisch und entwicklungsgeschichtlich sind die Einschlußgebilde der Epetheliosis desquamativa durch folgende Merkmale ausgezeichnet:

Zunächst treten Initialkörper auf, die den beim Trachom von Lindner[1]) beschriebenen sehr ähnlich sind. Sie färben sich nach Giemsa im Gegensatz zu den Kokken zartbläulich und die tingible Substanz ist an den Polen angehäuft; bei der Teilung schnüren sie sich, wie Lindner für die Trachomchlamydozoen beschrieben hatte, hantelförmig durch. Die beiden zartbläulich gefärbten Seitenwände des Elementarorganismus, in dem weitere Differenzierungen färberisch zunächst nicht nachweisbar sind, nähern sich einander, bis das ganze Gebilde die Biskuitform erreicht und sich zerteilt. Bei manchen Formen gewinnt die centrale „Alveole" eine beträchtliche Ausdehnung und das Initialkörperchen ist dann polar etwas zugeschärft.

Diese Initialkörper kommen entweder frei im Ausstrich vor oder sind einzeln oder zu Gruppen vereint in größerer Menge in den Epithelzellen intracellulär nachweisbar. Sie können sich in dieser Gruppenanordnung noch weiter vermehren und bilden dann im teilweisen Gegensatz zum Trachom größere Einschlüsse, die nur aus den blaugefärbten Initialkörpern bestehen. Ein zweite Entwicklungsphase beginnt, wie bereits Lindner für die Trachomeinschlüsse vermutet hatte, damit, daß ein intracelluläres Initialkörperchen allein oder in der Mitte eines größeren Einschlusses sich abrundet und in seinem Innern eine rötlich-blaue Substanzanhäufung sichtbar wird, von der aus gleichsam im Sinne einer endogenen Sporenbildung die Produktion der roten Elementarkörperchen (b) ausgeht, während an der Peripherie die Bildung von Initialkörperchen meistens eine Zeitlang noch fortschreitet. In einzelnen Fällen können diese Initialkörper außerdem eine gewisse Selbständigkeit erlangen

[1]) Wiener klinische Wochenschrift 1909 Nr. 49. Die dort gegebene Abbildung paßt für die von uns gesehenen Gebilde.

und zum Ausgangspunkt für weitere Einschlüsse zweiter Art werden. Die Bildungsstätte der roten Elementarkörper ist im Centrum des Einschlusses zu suchen, und zwar dort, wo meist der von der Trachomforschung her bekannte Restkörper lokalisiert ist. Der Restkörper tritt in den Einschlüssen selbst bei intakter Kernmembran der Wirtszelle auf und kann daher nicht ohne weiteres als ein Kernderivat aufgefaßt werden, selbst wenn er sich nach MALLORY ähnlich färbt. Die Resultate von Färbungen dürfen jetzt nicht mehr ohne weitere mikrochemische Untersuchungen im Sinne eines definitiven cytologischen Urteils verwendet werden (vgl. GROSS, Mitt. a. d. zoolog. Station z. Neapel 1910, MINCHIN, Quart. Journal Mic. Sc. Vol. 53, 1909). Die Restkörper sind zuweilen von einem leichten Hof umgeben, treten manchesmal in Zwei- bis Dreizahl auf, teilen sich durch eine Art von Zerfall und unter Umständen gewinnt man den Eindruck, daß sie bei vorschreitender Vermehrung der Elementarkörper schwinden.

Im Centrum des Einschlusses treten zuerst in einer blaßrötlichen Grundsubstanz intensiv rotgefärbte, größere Körnchen, die manchesmal einen lichteren roten Hof zu besitzen scheinen, auf und teilen sich erst in der Folgezeit in die oft gruppen- und segmentweise angeordneten, zahllosen Elementarkörperchen auf. Die Elementarkörperchen färben sich infolge einer Metageneese mehr violettrot. Im Gegensatze zum Trachom kommen in den Stadien der Epitheliosis I—II schließlich Einschlüsse vor, die nur aus den roten Elementarkörpern bestehen und an deren Aufbau weder Plastinsubstanzen der Zelle noch Initialkörper des Parasiten beteiligt sind. Auch freie Elementarkörper in verschiedener Anzahl sind in den Epithelzellen nachgewiesen worden.

Der Entwicklungsgang der fraglichen Gebilde würde sich nach den bisherigen Untersuchungen folgendermaßen gestalten :

A. Initialkörper (frei oder intracellulär) — Vermehrung derselben — Initialkörpereinschlüsse — allein. B. Einschlüsse, in denen wahrscheinlich von einem Restkörper aus endogen rot färbbare Bildner der Elementarkörper entstehen — Einschlüsse mit Elementarkörpern und peripheren Initialkörpern — Einschlüsse bestehend nur aus Elementarkörpern.

Morphologisch sind die Einschlüsse nicht immer von den Trachomeinschlüssen zu unterscheiden, ebensowenig wie man die verschiedenen Amöben, Trypanosomen, Halteridien sowie manche niedere Pilze morphologisch voneinander nicht in allen Fällen streng zu differenzieren in der Lage ist. Beim Trachom kommen nie reine Elementar- sowie derart große reine Initialkörpereinschlüsse vor, auch sind uns so extreme Mehrfachinfektionen der Zelle (bis zu 9 Einschlüssen) bis jetzt bei der Körnerkrankheit nicht bekannt geworden.

Im Sinne der Biologie und Cellularpathologie kann man aber die Einschlußkörper der Epitheliosis desquamativa von denen der Körnerkrankheit, wie in den folgenden Zeilen des genaueren noch ausgeführt werden wird, vollkommen trennen. — Die spezifischen Einschlüsse sind auch in drei Fällen von ganz frischen Infektionen, wo während der anfänglichen Behandlung von dem kranken Auge das gesunde Auge infiziert worden ist, konstatiert worden. Da in der Mehrzahl der untersuchten Fälle mikroskopisch andere Mikroorganismen nicht nachweisbar waren (siehe oben), während in der überwiegenden Zahl der frischen Fälle die sich vermehrenden Einschlüsse gefunden worden sind, sind wir geneigt, sie mit der hier geschilderten Augenkrankheit in einen ursächlichen Zusammenhang zu bringen. Die Entscheidung kann durch das Tierexperiment, dessen wir uns hier in der Südsee aus Mangel an Tiermaterial leider nicht bedienen können, herbeigeführt werden. In einem gewissen Sinne können dasselbe die oben angeführten drei Fälle von Autoinfektion ersetzen. Im weiteren Verlaufe unserer Untersuchungen ist es uns übrigens

gelungen Meerschweinchen mit Erfolg zu infizieren, dagegen lieferten weitere Passageversuche ein negatives Resultat. Schon 24 Stunden nach der Infektion zeigte sich die Impfstelle verdickt und graulich verfärbt. Während 4 Tagen nahmen die Veränderungen, in denen sich die Einschlüsse nachweisen ließen, an Ausdehnung und Intensität zu, um dann allmählich abzuklingen.

Biologie.

Die Initialkörper sowie die intracellulären Einschlüsse sind in dem dünnflüssigen, nicht trüben Sekret als mäßig lichtbrechende zarte Gebilde im nativen Präparat nachgewiesen worden. Sie sind unbeweglich und verändern nicht in dem mit Vaseline umrandeten Präparat ihre Gestalt. Sie färben sich nach der bekannten Methode von Giemsa sowohl im trocken als feucht fixierten Ausstrich leicht und nehmen die Färbung gut an. — Die Infektion geschieht durch Taschentücher, Lavalavas und Handtücher, die die Samoaner besonders in Krankheitsfällen reichlich und möglichst unrationell benützen.

Tritt sekundär eine Mischinfektion bakterieller Natur, vor allem Mikrokokken (samoensis) hinzu und wird derart das Sekret reichlicher und milchig trübe, so besorgen außerdem die Weiterverschleppung die zahllosen lästigen Fliegen, die besonders in großer Zahl an den Augen der kranken Kinder sitzen und an deren Füßen und Rüssel Schleimflocken nachgewiesen worden sind. Die Fliegen sind auf den Samoa- und Tongainseln keine Haustiere, sondern Buschtiere, die sich besonders zur Zeit der Reife der Brotfrucht und in der Regenzeit enorm vermehren und außerordentlich lästig werden. Die genannte Augenkrankheit wird auch ungefähr um diese Zeit am häufigsten beobachtet.

Die Epitheliosis desquamativa ist nicht bloß auf den Samoainseln (Upolu, Savaii, Manono) verbreitet, sondern tritt nach mündlichen Mitteilungen auch in den benachbarten Inselgebieten auf. Dank der freundlichen Bemühung von Dr. Encletsberger in Rotorua (Neuseeland) konnten wir einige Fälle auch bei den Maoris in Neuseeland untersuchen. In einem Fall war auch die Tränensack- und Nasenschleimhaut affiziert und in den Abstrichen von derselben sind spärlich rote Einschlüsse nachgewiesen worden. Auch von den Tongainseln gelangten einige Fälle zu unserer Beobachtung.

Pathologie.

Die Einwirkung des Virus auf das befallene Gewebe ist von sehr verschiedener Art. Zunächst scheinen die Initialkörper der Epitheliosis desquamativa eine Art von Toxin zu produzieren, da besonders in der Conjunctiva der erkrankten Kinder bei reichlichem Auftreten derselben viele Zellen zugrunde gehen und man hernach im Ausstrich meistens freie degenerierende Zellkerne findet neben blau färbbarem Zelldetritus. Treten die Initialkörper in größerer Zahl in der Epithelzelle intracellulär auf, so wird diese in der Folgezeit hypertrophisch und der Kern unterliegt pyknotischen Prozessen. Vollentwickelte Einschlüsse deformieren, sobald sie in der Zweizahl vorhanden sind, oft bei ihrem Wachstum rein mechanisch den rigiden Zellkern.

Im Gegensatz zum Trachom treten meistens in dem befallenen Epithel keine mitotischen Kernteilungen auf, vielmehr wird die Tätigkeit der Cytocentren durch das Vorhandensein der Parasiten ausgeschaltet und die Kerne teilen sich auf direktem Wege. Die Kerne sind im Gegensatz zum Protoplasma zunächst etwas hypertrophisch und es findet umgekehrt wie bei der Regeneration

(GODLEWSKI, Archiv für Entwicklungsmechanik XXX. Bd., II. T., 1910, S. 87) eine Verschiebung der quantitativen Kernplasmarelation zugunsten des Kernes statt. Auf älteren Stadien besitzen die hypertrophischen Kerne mehrere verschieden große Plastinnucleolen. Ein Epithelzellkern kann oft hintereinander durch Einschnürungen in 3 Teile zerfallen, ausgesprochene Kernverschmelzungen sind mit Sicherheit nicht beobachtet worden. — Wird die Tätigkeit der Cytocentren durch das Virus herabgesetzt, so wird die Produktion gewisser membranbildender Stoffe, die sich in der Vergrößerung der Kernoberfläche und der Fragmentation der Kerne äußert, erhöht. Auf dem Stadium der Epitheliosis II trifft man im Ausstrich auch zahlreiche, nach GIEMSA rotgefärbte Zellen mit einem flockigen Inhalt, der beim Zerdrücken der Zelle myelinartige, rot tingierte Figuren bildet, an. In letzter Zeit neigt man von zoologischer und botanischer Seite (PALLADIN, LEPESCHKIN u. a.) immer mehr der Ansicht zu, daß die Membranen teilweise von Lipoiden gebildet werden, und wir glauben mit der Annahme nicht fehl zu gehen, daß es sich bei dem rötlichen myelinartigen Zellinhalt der Epithelzellen der Epitheliosis II um analoge Membranlipoide handelt. Wird bei der Mitose das flüssige Dispersionsmittel des Protoplasmas durch die Funktion der Cytocentren bei der plasmatischen Gelierung in bestimmter Weise verwendet, so tritt in unserem Falle die Flüssigkeit vielfach an der Peripherie der amitotisch sich teilenden Zelle in Form von Alveolen auf. Die Tochterzellen können sich infolgedessen in dem Zellverbande nicht mehr verfestigen und werden durch die im Epithel herrschenden Seitenkräfte, sowie die bei der Regeneration eine große Rolle spielende Cytolysthesis (PROWAZEK, RHUMBLER) aus dem Verbande hinausgedrängt und flottieren frei im Sekret herum. Da außerdem zahlreiche amitotisch geteilte oder vom Virus befallene Zellen degenerieren, so kommt es im Laufe der Erkrankung zu jener glatten, weißen Atrophie der Conjunctiva, die für diese Krankheit besonders charakteristisch ist. Regte das Trachomvirus eine Neubildung im Epithel, die sich in der Produktion der bekannten Körner teilweise äußert, unter mitotischen Prozessen an, so ruft das Virus der Epitheliosis desquamativa eine Rarifizierung der Epithelbedeckung unter Erscheinungen der Amitose hervor. Das Trachomvirus hat Neoplasien, das hier beschriebene Virus frühzeitige Atrophien der befallenen Gewebe zur Folge. Auch im Protoplasma kann man in den nach GIEMSA gefärbten Ausstrichen Veränderungen nachweisen, die sich besonders in einer lokalen, oft peripher gelegenen Ansammlung von Plastinsubstanzen äußern. Im Epithel der Conjunctiva findet man später in der Nähe der Kerne Anhäufungen eines gelbbraunen Pigmentes, das ein Umwandlungsprodukt besonders karyogener Pigmentbildner ist. LEBER'sche Zellen in ihrer typischen Ausbildung, wie sie für das Trachom charakteristisch sind, sind nicht beobachtet worden. Die Epithelzellen vereinnahmen nur in geringem Maße polynucleäre Leucocyten und organischen Detritus.

Da die von uns mikroskopisch nachgewiesenen Einschlüsse nur in den Epithelien vorkommen, so liegt hier abermals ein Fall einer Epitheliosis vor, die im ersten Krankheitsstadium durch eine lebhafte, zu Atrophien führende Epitheldesquamation ausgezeichnet ist. Wir schlagen daher vor, diese neue Augenerkrankung Epitheliosis desquamativa zu nennen, da die Desquamation das für diese Krankheit eigentlich charakteristische Phänomen ist, während all die anderen, im klinischen Teil geschilderten Erscheinungen als Folgezustände dieser Vorgänge aufzufassen sind.

Eine histogene Immunität besteht bei dieser Epitheliosis nicht — es sind sowohl Rezidive als Reinfektionen und vermutliche Autoinfektionen beobachtet worden.



Fig. 1a. Epithelzelle mit pyknotischem Kern und zahlreichen Initialkörpern (Fall 14). Homog. Immers. 2 mm. Ocular 4. Zeichenapp.

Fig. 1b. Initialkörper, stärker vergrößert.

Fig. 2. Zelle mit Einschluß. Hantelteilung der Initialkörper. Elementarkörper. (Fall 699, Sawaii.) Homog. Immers. 2 mm. Ocular 6. Zeichenapp.

Fig. 3. Amitotisch geteilte Epithelzellen mit 3 Einschlüssen. Homog. Immers. 2 mm. Ocular 4. Zeichenapp. (Fall 14, Upolu.)

Fig. 4. Einschluß mit Restkörper und Bildnern der Elementarkörper. (Fall 1080, Sawaii.) Homog. Immers. 2 mm. Ocular 6. Zeichenapp.



Fig. 5. Einschluß dem Kern ansitzend. (Fall 609. Sawaii.) Homog. Immers. 2 mm. Ocular 6. Zeichenapp.

Fig. 6. Großer Einschluß. (Fall 214, Sawaii.) Homog. Immers. 2 mm. Ocular 6. Zeichenapp.

Fig. 7. Einschluß bestehend nur aus roten Elementarkörpern. (Fall 107, Sawaii.) Homog. Immers. 2 mm. Ocular 6. Zeichenapp.



Fig. 8. Schematische Darstellung der Entwicklung der Einschlüsse; i = Initialkörper, r = Restkörper, e = Elementarkörper.

Therapie.

In therapeutischer Absicht benützen die Samoaner verschiedene Pflanzen, deren zerkaute Blätter sie in Säckchen aus den Blattscheiden der Kokospalme einschlagen und in das Auge auspressen. Es handelt sich hauptsächlich um folgende Pflanzen: Dysoxylon Marta Rein (Meliaceae), samoanisch: maota; Terminalia Catappa L. (Combretaceae) sam.: talie: Premna tahitensis Sauer (Verbenaceae), samoanisch: alo alo; Hernandia peltata Meissn. (Hernandiaceae), samoanisch: pu a.

Durch diese therapeutischen Eingriffe entstehen auf der Conjunctiva des Oberlides oft artifizielle, folliculäre Bildungen, sowie braungefärbte, pfenniggroße Flecken, die besondere Pigmentherde vortäuschen können.

Außerdem reiben die Samoaner die erkrankten Conjunctiven mit ösenartig gebogenen Fasern der Blattscheiden der Kokospalme oder der Filamentröhren der roten Schuhblumen (Hibiscus fau) ab, eine Manipulation, die für das erkrankte Auge nicht ungefährlich ist.

Neuinfektionen wurden meistens durch Einträufelungen von Pyoktanin (Merck) 1:100 bis 1:1000 im günstigsten Sinne beeinflußt. Das Pyoktanin durchtränkt die erkrankten Epithelien, die durch eine elektive Absorption bläulich verfärbt werden. In nach Giemsa gefärbten, trocken fixierten Abstrichen von derartig beeinflußten Epithelien tingieren sich die Zelleiber besonders d u n k e l. Die Vermehrung der Einschlußkörper wird durch mehrmalige Pyoktanineinträufelungen hintangehalten. Die Elementarkörper in den größeren Einschlüssen werden verklumpt und färben sich intensiver rot; gleichzeitig erscheinen sie durch Quellung eine Vergrößerung zu erleiden. Das Pyoktanin wird im allgemeinen gut vertragen, ruft nach der Instilation keine Schmerzhaftigkeit hervor, und die durch das Pyoktanin veranlaßte Färbung der Conjunctiva ist nach 24 Stunden meistens nicht mehr nachweisbar. Immerhin hat die Anwendung von Pyoktanin in der Verdünnung 1:100 mit Vorsicht zu geschehen, da wir gelegentlich eine Idiosynkrasie der Conjunctiva beobachten konnten; im besonderen erscheinen die Fälle von frischen Erkrankungen der Hornhaut, sowohl in Form von spezifischen Geschwüren wie in Gestalt von pannösen Veränderungen dazu disponiert zu sein. Es erfolgt dann eine starke aktive Hyperämie der Conjunctiven, hauptsächlich in den Bezirken, die wie die untere Übergangsfalte am längsten dem unmittelbaren Pyoktanineinfluß ausgesetzt worden sind. Wie auch sonst bei der Krankheit wirkt in diesen Fällen von medikamentöser Reizung der Conjunctiven das Epirenan außerordentlich günstig. Die Anwendung von Argentum nitricum hat nur in den allerersten Stadien der Erkrankung, Argentamin (Schering) auch später besonders bei gleichzeitiger bakterieller Mischinfektion gute Resultate gezeitigt. Während Zincum sulfuricum keinen bemerkenswerten Einfluß auf die Erkrankung besitzt, sind adstringierende Mittel wie Kalium chloricum (5 %) sowie Tinctura opii crocata nach Abklingen des Entzündungsprozesses zu empfehlen und vermögen der Conjunctiva ihre Sukkulenz und ihr normales Aussehen wiederzugeben.

Für die späteren Folgezustände (Pterygium, Symblepharon, Entropion, centrale Leukome) kommen natürlich die üblichen operativen Behandlungsmethoden und in symptomatischer Beziehung eine ausgedehnte Salbenbehandlung in Betracht.

Trachom und Chlamydozoenerkrankungen der Schleimhäute.

Von

L. Halberstaedter (Berlin).

Mit Tafel IV.

Die Entwicklung, welche das Studium der im vorliegenden Abschnitt zu behandelnden Einschlüsse genommen hat, bringt es mit sich, daß sich dieses Kapitel nicht nur auf Untersuchungen beim landläufigen Trachom stützt und daß außer krankhaften Prozessen der Conjunctiva auch noch Erkrankungen anderer Schleimhäute mit in die Betrachtung einbezogen werden müssen. Es ist vorweg zu bemerken, daß die hier in Betracht kommenden Fragen noch keineswegs abgeschlossen, vielmehr die Dinge noch sehr im Fluß sind; daher werden bei manchen Punkten nur die divergenten Anschauungen der einzelnen Autoren wiedergegeben werden können, ohne daß es zurzeit möglich wäre, eine bestimmte Ansicht als die allein richtige hinzustellen. Andererseits sind aber gerade in letzter Zeit viele anfänglich sich scheinbar widersprechende Beobachtungen soweit aufgeklärt worden, daß sich eine zusammenfassende Bearbeitung des bereits vorliegenden Tatsachenmaterials rechtfertigt.

Erschwerend für die Beurteilung vieler hierher gehörigen Fragen wirkt der Umstand, daß rein klinisch das Trachom noch nicht ein von allen Ophthalmologen anerkanntes, scharf umgrenzbares Krankheitsbild darstellt. Weder Beginn, Symptome und Verlauf der Erkrankung, noch die pathologisch anatomischen Veränderungen zeigen eine genügende Einheitlichkeit, welche gestatten würde, den Begriff des Trachoms absolut präzise aufzustellen und so kommt es auch, daß über die Zugehörigkeit mancher Typen von Conjunktivalerkrankungen z. B. der Conjunctivitis sicca zum Trachom unter den Ophthalmologen noch keine Einigung zustande gekommen ist.

Es ist natürlich unmöglich, an dieser Stelle die klinischen Fragen zu erörtern, es muß bezüglich dieser Punkte auf die ophthalmologischen Handbücher verwiesen werden.

Auf diese Unbestimmtheit des klinischen Bildes ist es wohl auch zurückzuführen, daß das Trachom als selbständige Infektionskrankheit mit einheitlicher Ätiologie von vielen Ophthalmologen überhaupt nicht anerkannt wird, sondern daß z. T. die Annahme besteht, daß das klinische Bild des Trachoms durch verschiedenartige Mikroorganismen hervorgerufen werden könne, oder daß das Trachom, wie andere annehmen, auf dem Boden einer Ophthalmoblennorrhoe entstehe. Von einzelnen Ophthalmologen wurde überhaupt geleugnet, daß das Trachom einen infektiösen Prozeß dar-

stelle und angenommen, das alle möglichen nichtspezifischen Reize, wenn sie lange genug auf die Conjunctiva einwirken, oder eine besondere Disposition besteht, Trachom erzeugen können.

Auf diese Anschauungen braucht hier nicht ausführlicher eingegangen zu werden, weil die Infektiosität des Trachoms, die aus klinisch-epidemiologischen Beobachtungen schon wahrscheinlich gemacht worden war, durch die in neuerer Zeit vorgenommenen künstlichen Übertragungen auf Menschen und Affen absolut sicher und einwandsfrei bewiesen worden ist.

Experimenteller Nachweis der Infektiosität.

Übertragungsversuche auf die menschliche Conjunctiva sind zuerst von Addario (1) im Jahre 1900 ausgeführt worden. Addario übertrug auf die normale Conjunctiva von drei Blinden, welche an Atrophia bulbi litten, etwas Follikelinhalt von einem Trachomkranken. Nach drei Tagen stellte sich Rötung und Tränen ein, nach 6 Tagen leichtes Ödem, nach 15—20 Tagen war Schwellung, Rauhigkeit und hahnenkammartiges Aussehen der Conjunctiva zu konstatieren und nach durchschnittlich 1 Monat war das typische Bild eines follikulären Trachoms mit Pannus entwickelt, das erst nach zweijähriger Behandlung geheilt war.

Diese Übertragungsversuche Addario's sind von prinzipieller Bedeutung, weil sie einerseits mit Sicherheit die Infektiosität des Trachoms beweisen und weil sie ferner Aufschluß über Inkubation, Beginn und Entwicklung der Erkrankung geben. Überraschend war allerdings hierbei zunächst die Kürze der Inkubation sowie der sehr akute Beginn und die rasche Entwicklung der Erkrankung bis zum vollständig ausgebildeten, schweren Trachom. Dieses in Addario's Experimenten sich zeigende akute Einsetzen und der schnelle Verlauf bis zur Höhe der Erkrankung stand in gewissem Widerspruch mit der allgemeinen Annahme, daß das Trachom von Beginn an eminent schleichend sich entwickele und daß ein akut einsetzendes Trachom nicht existiere. Aus diesem Grunde hat Greeff eine Nachprüfung der Experimente von Addario vorgenommen.

Greeff (37) führte zwei Übertragungsversuche aus, von denen einer, bei dem kein ganz sicheres Trachommaterial verwandt worden war, negativ verlief. Bei dem zweiten Versuch wurde das Impfmaterial durch Abschaben einer zweifellos trachomatösen Conjunctiva gewonnen und dasselbe sofort auf die normale Bindehaut eines jungen Mannes übertragen. Schon nach zwei Tagen war deutliche Rötung, Schwellung und Sekretion vorhanden, die in den nächsten Tagen zunahm. Nach 8 Tagen bereits waren deutliche tiefsitzende Follikel zu sehen und schon nach 14 Tagen war unter weiteren heftigen entzündlichen Erscheinungen das typische Bild äußerst schweren Trachoms entwickelt, das sich unter Behandlung langsam zurückbildete. In diesem Falle war die Inkubation noch kürzer als in den Fällen Addario's und es wurde auch durch diesen Versuch gezeigt, daß das Trachom — wenigstens unter den Bedingungen des Experimentes in akutester und stürmischster Weise einsetzen und innerhalb von Tagen sich bis zum Höhepunkt entwickeln kann.

Übertragung auf Tiere.

Die ersten sicheren Übertragungen von Trachom auf Affen wurden von Hess und Römer (53) ausgeführt, welche bei Pavianen durch Verimpfung trachomatösen Materials Veränderungen der Conjunctiva erzeugten, die in klinischer und pathologisch-anatomischer Hinsicht gewisse Übereinstimmung mit dem Trachom des Men-

schen zeigten, allerdings in einem milderen und abgeschwächteren Maße. Hess und Römer lassen es aus diesem Grunde und weil auch Narbenbildung an der Affenconjunctiva im Verlauf der Erkrankung nicht zu konstatieren war, unentschieden, ob es sich tatsächlich um echtes Trachom bei den infizierten Tieren gehandelt habe. Hess und Römer war auch bereits eine Weiterimpfung von Tier zu Tier gelungen. Bajardi (5) konnte bei Macacus und Cercopithecus ein leichtes aber deutliches Trachom erzeugen. Bertarelli und Cecchetto (7) berichteten über die Entwicklung eines typischen Trachoms bei einem infizierten niederen Affen (*Inuus cynomolgus*). 17 Tage nach der Impfung traten die ersten Reaktionserscheinungen auf, nach 30 Tagen war das Trachom schon deutlich, nach 45 Tagen bestand das Bild eines floriden Trachoms in so ausgeprägtem Maße, „wie man es selbst beim Menschen selten zu sehen bekommt". Auch bei Versuchen, die Lindner an niederen Affen ausführte, traten Veränderungen der Affenconjunctiva auf, die von kompetenter ophthalmologischer Seite als typisches Trachom angesprochen wurden. Ferner konnten Kuhnt und Thielemann (siehe bei 64) bei Javaaffen Trachom erzeugen.

Es ist demnach als sicher anzusehen, daß sich bei niederen Affen durch Verimpfung von trachomatösem Material nach einer Inkubationszeit von verschieden langer Dauer eine Erkrankung der Conjunctiva erzeugen läßt, die dem Bilde des menschlichen Trachoms in mehr oder weniger ausgesprochenem Maße entspricht. Es ist dies aber nicht immer der Fall. Häufig tritt nach Verimpfung des infektiösen Materiales nach einer mehrtägigen Inkubationszeit nur eine mäßige bis starke Conjunctivitis auf mit Rötung und Schwellung der Schleimhaut, geringer bis reichlicher Sekretion. Mitunter sind auch einige geschwollene Follikel sichtbar, der ganze Prozeß verläuft aber mehr unter dem Bilde eines einfachen Katarrhs (s. u.).

Alle Versuche, bei anderen Tieren experimentell eine trachomähnliche Erkrankung der Conjunctiva zu erzeugen, sind bisher gescheitert, trotzdem man sich vielfach damit bemüht hat. So sind von Greeff (37) vergeblich Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde zu Übertragungsversuchen mit Trachom verwandt worden. Dagegen hat Greeff bei einem großen Haushunde einmal eine spontan aufgetretene Conjunctivalerkrankung gesehen, die an ein sulziges Trachom erinnerte. Desgleichen beobachtete Dr. Kunz, wie Greeff berichtet, einen Hund, der jahrelang in einer Trachombaracke lebte und der auf beiden Augen dicke Trachomkörner zeigte. Auf Grund dieser beiden Beobachtungen sind von Greeff speziell an Hunden Übertragungsversuche mit Trachom vorgenommen worden, es ist ihm aber niemals gelungen, bei diesen ein dem menschlichen Trachom ähnliches Krankheitsbild zu erzeugen, selbst nicht nach langer Zeit. Übertragungsversuche auf Hunde und Ziegen machten ferner Kuhnt und Küsel, sowie Kuhnt und Thielemann (s. 64). Sowohl bei den Hunden wie bei den Ziegen entstand eine leichte Conjunctivitis, bei je einem Tiere einige Follikel, die nach einigen Tagen ohne Behandlung verschwanden. Dagegen berichtet Schiele (98), daß es ihm geglückt sei, bei Hunden ein experimentelles Trachom zu erzeugen.

Bakteriologische Ergebnisse.

Die vielfach unternommenen Versuche, einen bestimmten, in das Bereich der Bakterien gehörenden Erreger zu finden, sollen hier nur flüchtig gestreift werden, da den hierbei in der trachomatösen Conjunctiva gefundenen Mikroorganismen eine spezifische Bedeutung auf die Dauer nicht beigemessen werden konnte. Es kommen hierbei in erster Linie die Befunde von Sattler (96) in Betracht, welche sich auf gonokokkenähnliche Diplokokken beziehen, sowie die Untersuchungen von Michel (76), der ebenfalls Diplokokken in einer großen Zahl von Trachomfällen fand, welche grampositiv und kleiner als der Gonococcus waren. Koch (59) fand 1883 in trachomatösen Sekreten ein kleines, schlankes Stäbchen,

von dem 1886 WEEKS zeigte, daß es sich um einen in Ägypten sehr häufigen Begleiter des Trachoms handele, der für die menschliche Conjunctiva pathogen sei, aber nur einen Katarrh und nicht das Trachom selbst erzeuge. Kurze Stäbchen fand 1891 SHONGOLOWICZ (102). CAZALIS (12) beschrieb 1896 einen Mikroorganismus, den er *Streptothrix Försteri* nannte. MÜLLER (79) züchtete 1899 ein dem Influenzabazillus ähnliches Stäbchen aus trachomatösen Conjunctiven. Blastomyceten wurden beim Trachom von GONELLA, GUARNIERI, LODATO und ADDARIO (2) beschrieben.

Wenn auch alle diese Mikroorganismen als die direkten Erreger des Trachoms nicht anerkannt worden sind, so haben doch die betreffenden Untersuchungen entschieden einen großen Wert, weil sie zeigen, mit welchen Mikroorganismen, von denen einige eine sichergestellte Pathogenität für die menschliche Conjunctiva besitzen, der Trachomerreger vergesellschaftet vorkommen kann. Es ist dies insofern von Bedeutung, als je nach dem Vorhandensein des einen oder anderen Begleitparasiten das klinische Bild des Trachoms Verschiedenheiten zeigen und der Verlauf der Erkrankung beeinflußt werden könnte und daß vielleicht darauf die große Variabilität, die das Trachom in klinischer Beziehung zeigt, beruht.

Mikroskopische Befunde.

Die nunmehr zu schildernden mikroskopischen Befunde an trachomatösen Conjunctiven gingen davon aus, daß die bisherigen Versuche, durch Kultivierung zu der Auffindung des Trachomerregers zu gelangen, sämtlich fehlgeschlagen waren. Aus diesem Grunde haben HALBERSTAEDTER und PROWAZEK (41) bei ihren Trachomstudien, welche sie auf der NEISSER'schen Syphilisexpedition ausführten, von vornherein auf das Suchen nach einem bakteriellen Erreger verzichtet und sich auf die mikroskopische Untersuchung des Sekretes im nativen und gefärbten Präparat beschränkt. Bei derartigen Untersuchungen waren zunächst in stark verdünnten Sekretausstrichen, die nach der LÖFFLER'schen Geißelfärbung behandelt waren, sowie in entsprechenden Präparaten aus dem Follikelinhalt Trachomkranker kleinste körnchenartige Gebilde aufgefallen, die kleiner waren als die gleichzeitig gefärbten Bakterien; doch waren diese Befunde zunächst nicht zu verwerten, weil noch nicht genügend charakteristische morphologische Eigenschaften sich erkennen ließen. Da die Abstriche aus dem Sekret trachomkranker Patienten infolge reichlicher Verunreinigungen durch begleitende Bakterien, Kerntrümmer usw. ein zunächst sehr verwirrendes Bild bieten, in welchem man sich anfangs schwer zurechtfinden kann, wurde versucht, auf dem Wege des Tierexperimentes ein reineres und leichter zu beurteilendes Untersuchungsmaterial zu gewinnen. Als sichere Versuchstiere kamen nach den bis dahin vorliegenden Erfahrungen (s. o.) nur Affen in Betracht. In der Annahme, daß die sichersten Resultate sich bei anthropoiden Affen erzielen lassen müßten, wurden zunächst Orang-Utans als Versuchstiere benutzt. Als Ausgangsmaterial wurde das Sekret von sicher trachomkranken Patienten verwandt, die entweder noch gar nicht, oder wenigstens in letzter Zeit nicht behandelt worden waren. Das Sekret wurde aus dem Conjunctivalsack mittels Glaskapillaren entnommen, vor Luft und Licht geschützt transportiert und möglichst bald — innerhalb von ½ Stunde — verimpft. Zu diesem Zweck wurde die Conjunctiva palpebrarum von Orang-Utans ganz leicht skarifiziert, ein Tröpfchen des Impfmaterials mit einer Platinöse auf der Conjunctiva verrieben und ev. noch nach Einbringung des Sekretes das Lid auf dem Bulbus massiert. Nachdem die geringe Reizung abgeklungen war, zeigte die Conjunctiva zunächst keine Veränderungen, erst nach einer Inkubationszeit von etwa 7 Tagen trat eine mäßige Rötung, Schwellung und Sekretion auf. Nunmehr wurden Abstrichpräparate hergestellt, welche möglichst viel Epithelzellen der infizierten Conjunctiva enthielten. Die

so gewonnenen Präparate von der Affenconjunctiva zeichneten sich im Vergleich zu den menschlichen Trachompräparaten durch größere Reinheit und Klarheit aus. In derartigen Präparaten zeigten sich bei der Giemsa'schen Färbung innerhalb der Epithelzellen eigenartige Einschlüsse, welche zunächst nach Größe, Lagerung und in ihren Details sehr verschiedenartige Bilder ergaben, die sich aber doch mit der Zeit in einen gewissen Zusammenhang miteinander bringen und bestimmte charakteristische Eigentümlichkeiten stets in derselben Weise erkennen ließen. Diese zunächst in den Epithelien der infizierten Affenconjunctiva erkannten Gebilde konnten nun auch in Abstrichpräparaten der trachomatösen menschlichen Conjunctiva gefunden werden, während sie in der nicht trachomatösen menschlichen sowie in der normalen Affenconjunctiva in einer Anzahl von Kontrolluntersuchungen vermißt wurden. Die zunächst festgestellten Formen wurden in der ersten Mitteilung von Halberstaedter und Prowazek (41) folgendermaßen beschrieben:

„In den nach Giemsa gefärbten Präparaten waren innerhalb der Epithelzellen neben dem Kern in dem lichtblauen Protoplasma dunkelblau färbbare, nicht homogene, unregelmäßige Einschlüsse sichtbar (zuerst von Prowazek konstatiert). Die zunächst kleinen, runden oder ovalen Einlagerungen werden allmählich größer, nehmen eine maulbeerförmige Gestalt an und erfahren eine mit fortschreitendem Wachstum zunehmende Auflockerung, die im Zentrum beginnt In der Folge sitzen sie meist kappenförmig dem Kern auf. Sodann tauchen innerhalb dieser Einschlüsse rot färbbare, distinkte, sehr feine Körperchen auf, die sich rapide vermehren, die blau gefärbten Massen allmählich zum Verschwinden bringen. Schließlich nehmen sie den größten Teil des Protoplasmas ein, während die blau gefärbten Substanzen nur noch als kleine Inseln zwischen ihnen nachweisbar sind. In den Ausstrichpräparaten kann man auch freie Körnchen neben den Zellen beobachten. Die beschriebenen Veränderungen des Conjunctivalepithels erwiesen sich als übertragbar, wie die spontane spätere Erkrankung des anderen Auges bei Orang-Utans sowie die gelungene künstliche Übertragung von Tier zu Tier beweisen.

Die blauen, amorphen Massen der Einschlüsse besitzen dieselbe Avidität zu der blauen Komponente des Giemsa-Farbstoffes, wie die Nukleolen und sind wahrscheinlich mit dem Plastin identisch. Dagegen sind die scharf umschriebenen, distinkt rot gefärbten Körnchen, die schätzungsweise eine Größe von $\frac{1}{4}\ \mu$ besitzen, die Träger des Virus selbst. Sie vermehren sich nämlich rapide, indem sie sich vergrößern und dann in zwei doppelpunktartige Körnchen zerfallen."

Es wurden also die Einschlüsse als aus zwei verschiedenartigen Komponenten zusammengesetzt aufgefaßt, die sich sowohl durch ihre Gestalt, als auch durch ihr Verhalten der Giemsa-Farbe gegenüber unterscheiden lassen. Der eine Anteil färbt sich nach Giemsa blau, bildet die Hauptmasse des Einschlusses, solange derselbe im ganzen noch klein ist, zerfällt, wenn der Einschluß größer geworden ist, in kleinere Partikelchen, die stets unregelmäßig, schollig, amorph aussehen. Ganz anders verhält sich der zweite Anteil des Einschlusses. Derselbe besteht aus kleinen, distinkten, körnchenartigen Gebilden, die um so zahlreicher in einem Einschluß vorhanden sind, je größer derselbe geworden ist. Dieselben färben sich mit Giemsa-Lösung bei einer bestimmten Färbedauer rot, erscheinen aber in einem violetten Ton, wenn die vorher erwähnten, sich blau färbenden Massen sie etwas verdecken. Ihre Größe schwankt in kleinen Grenzen, etwa um $\frac{1}{4}\ \mu$ herum; neben Exemplaren, die etwas größer sind, liegen kleinere Körnchen zu zweien, wie Diplokokken. Die Tatsache, daß diese Körnchen mit dem Größerwerden der Einschlüsse an Zahl zunehmen, sowie die Diplokokkenformen, welche auf Teilungsvorgänge hindeuten, lassen darauf schließen, daß dieselben der Vermehrung fähig sind. Dieses Verhalten, sowie die Möglichkeit, durch Verimpfung einschlußhaltigen Materiales in der Conjunctiva des Orang-Utans

diese Gebilde nach einer bestimmten Inkubationszeit stets in derselben Weise hervorrufen zu können, machen es wahrscheinlich, daß es sich um Mikroorganismen handelt.

Die amorphen, nach Giemsa blau gefärbten Massen wurden zunächst als Reaktionsprodukte der Zelle auf die in sie eingedrungenen Körnchen aufgefaßt; beide zusammen bilden den „Einschluß". Die beim Trachom gefundenen Einschlüsse sind unter denselben Gesichtspunkten zu betrachten, wie die entsprechenden Einschlüsse bei Variola-Vaccine, bei der Lyssa, der Hühnerpest, dem Molluscum contagiosum, dem Epithelioma contagiosum der Vögel usw. Viele Fragen, die sich an das Studium dieser Einschlüsse knüpfen, vor allem die Frage der Spezifizität und ihrer Bedeutung und Erregernatur, sind allen diesen Einschlüssen gemeinsam. Ergebnisse, die beim Studium der einen Art gemacht worden sind, lassen sich bis zu einem gewissen Grade auch für das Verständnis der anderen verwerten. Die Trachomeinschlüsse zeichnen sich besonders dadurch aus, daß bei ihnen der Unterschied zwischen dem Reaktionsprodukt der Zelle — plastinartige Massen — und den dieses Reaktionsprodukt hervorrufenden Gebilden — nach Giemsa rotgefärbte Körnchen — leichter der Beobachtung zugänglich ist. Aus diesem Grunde ist auch im Anschluß an die Trachomstudien der Begriff der Chlamydozoen von Prowazek aufgestellt worden. Mit Recht weist Hartmann darauf hin, daß das Verständnis für diese Einschlüsse hauptsächlich dadurch gefördert wird, daß man alle die hierhergehörigen Affektionen im Zusammenhang betrachtet, und seine Ansichten nicht nur auf das Studium einer einzigen Einschlußart aufbaut.

Morphologie.

Die Morphologie der Trachomeinschlüsse, wie sie eben kurz wiedergegeben worden ist, erfuhr durch verschiedene Autoren in der Folgezeit Bestätigung und allmähliche Erweiterung. Das Studium der Gebilde wurde an Abstrichpräparaten, die nach der Giemsa'schen Methode gefärbt waren, oder an feucht fixierten und mit Heidenhain's Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten vorgenommen (Leber und Hartmann) und die so gewonnenen Ergebnisse durch die Untersuchung von Schnittpräparaten (Herzog, Radziejewski, Wolfrum, Lindner) wesentlich bereichert.

Was zunächst die Einzelkörnchen betrifft, so werden dieselben von fast allen Autoren als scharf umrandete Gebilde geschildert, die von einem hellen Hof umgeben sind, häufig zu zweien aneinander liegen, als ob sie sich gerade geteilt hätten (Doppelpunktformen). Es soll für diese Körnchen der später von Herzog (49) vorgeschlagene Name „Elementarorganismen" resp. der Name „Elementarkörperchen" benutzt werden. A. Leber und Hartmann (67) beobachteten an Trachomabstrichen, die feucht fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt worden waren, daß häufig zwei Körner durch einen mehrmals so langen Verbindungsfaden miteinander hantelförmig verbunden waren, wobei die ganze Hantelfigur von einem hellen Hof umgeben ist. Diese hantelförmige Teilung wurde späterhin auch von anderen Untersuchern konstatiert und spielt für die Auffassung der Gebilde eine gewisse Rolle. Die Elementarkörperchen werden in Abstrichpräparaten innerhalb des Protoplasmas der Epithelzellen gefunden, nach A. Leber und Hartmann kann man auch vielfach im Innern des Kernes die gleichen Einzel- und Doppelkörner beobachten, wie im Plasma der Zelle. Die Elementarkörperchen kommen auch frei vor, allerdings dann ohne genügende Charakteristika (Fig. 5) (Halberstaedter und Prowazek, Greeff, Frosch und Clausen, sowie viele andere) und können auch innerhalb der sog. Leber'schen Zellen und im Follikelinhalt (Greeff, Frosch und Clausen (24)), sowie innerhalb roter Blutkörperchen (A. Leber, Lindner) gefunden werden; das Eindringen in diese ist wohl, wie Lindner annimmt, passiv während der Herstellung der Präparate erfolgt. Charakteristische Bilder, die

eine sichere Erkennung zulassen, beobachtet man jedoch nur innerhalb der Epithelzellen. Hier sieht man die Elementarorganismen innerhalb der oben beschriebenen Einschlüsse, meist in Haufenform, umgeben von mehr oder weniger reichlich vorhandenem Plastin, beginnend mit kleineren Einlagerungen, die allmählich das gesamte Protoplasma einnehmen (Fig. 1—5). Seltener treten die Körnchen mehr diffus auf,

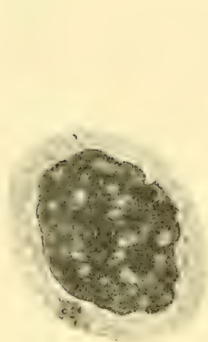


Fig. 1.

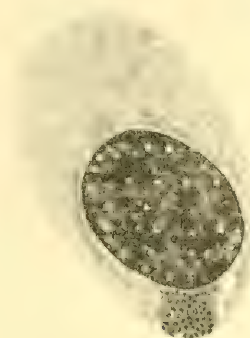


Fig. 2.

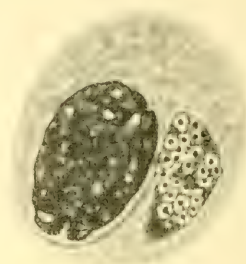


Fig. 3.

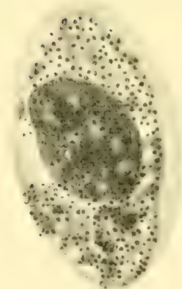


Fig. 4.

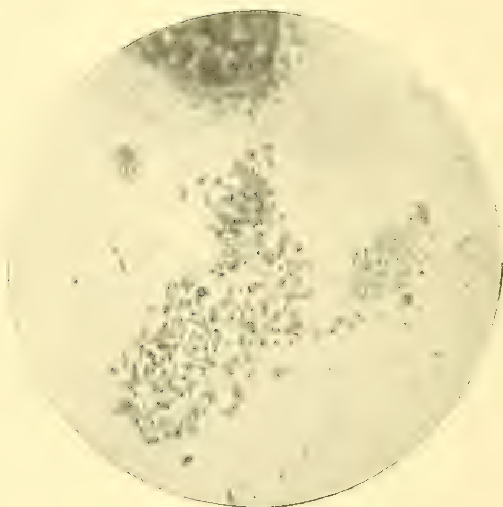


Fig. 5.

jedes einzelne umgeben von einem kleinen Plastinbröckchen (Taf. IV Fig. 5). Alle die bisher beschriebenen und abgebildeten Formen, die sich leicht als zusammengehörig erkennen lassen, zeigen die oben angeführten charakteristischen Eigenschaften, so verschiedenartig die einzelnen Formen auf den ersten Blick auch aussehen mögen, doch immer in derselben Weise. Zwischen den in den Abbildungen wiedergegebenen Formen finden sich selbstverständlich alle möglichen Übergangsstadien und es ließe sich mit Leichtigkeit eine ganze Reihe von Bildern nebeneinander setzen, an denen man die allmähliche Entwicklung der Einschlüsse von den kleinsten Einlagerungen beginnend bis zu den die ganze Zelle einnehmenden Formen erkennen kann.

Außer den bisher beschriebenen Formen erwähnt Herzog (49) Gebilde, die er als früheste Entwicklungsstadien auffaßt und welche er in wohlerhaltener Beschaffenheit in den Abstrichpräparaten nur selten angetroffen hat. Bei Giemsa-

Färbung erscheinen die betreffenden Gebilde in eine glashelle, strukturlose Grundsubstanz eingebettet in Gestalt birnenförmiger Körper, die tiefblauviolett gefärbt sind. Ob diese Elemente in ihrem Innern noch einen Chromatinkern besitzen, ließ sich bei der opaken gesättigten Färbung des Ganzen nicht erkennen. Die birnenförmigen Gebilde liegen entweder isoliert, oder sie sind miteinander zu zweien noch durch feine Fäden sanduhrförmig miteinander verbunden, wobei zu bemerken ist, daß die einzelnen durch den Faden verbundenen Teile nicht immer gleiche Größe haben. In den angeführten Verhältnissen erblickt Herzog eine weitgehende Analogie mit der von Paschen gegebenen Beschreibung des Vaccineerregers. Mit zunehmender Vermehrung werden nach Herzog diese Formen, die er als „Initialelemente" bezeichnet, immer kleiner und die Birnenform wird immer undeutlicher, bis schließlich ein mehr — weniger kugelförmiger Habitus entsteht. Während die Farbe der Elementarorganismen bei der Giemsa'schen Färbung zunächst noch eine tiefblaue ist, erscheinen sie schließlich mehr blaurötlich, entsprechend dem Durchschimmern eines roten Kügelchens durch lichter gewordene blaue Umhüllungsmassen, so daß der nunmehr aus einer Anzahl derartiger Gebilde zusammengesetzte Einschluß ein scheckiges Aussehen bietet (Herzog). Damit wäre dann der Übergang zu den anfangs geschilderten und abgebildeten Formen gegeben. Einmal hat Herzog derartige birnenförmige und sanduhrförmige Initialelemente gefunden, die sich nach Art der chromatischen Substanz nach Giemsa rot färbten.

Formen, die hierher gehören, sind in Abstrichpräparaten bei Giemsa-Färbung von Prowazek und Halberstaedter beobachtet worden. In Fig. 1 Tafel IV sind drei verschiedene Stadien dieser Initialgebilde zu sehen. Bei a zwei kleine, dicht nebeneinander von einer hellen Zone umgebene, mattblaue runde Körnchen, bei b zwei ebensolche, aber schon größere, durch einen Strang verbundene (Hantelform), welche genau die Farbe des Nucleolus angenommen haben, bei c sind diese Gebilde, die einem Diplococcus ähneln, an der Peripherie blau gefärbt, lassen aber bereits im Innern einen roten Farbenton erkennen. Auf Fig. 2 bei a ist ein aus vier derartigen Einzelgebilden bestehender Haufen zu erkennen, hier tritt aber der rot gefärbte Inhalt nicht so deutlich hervor; bei b eine größtenteils aus roten Körnchen bestehende Anhäufung.

Eine wertvolle Ergänzung der Befunde, wie sie sich im Giemsa-Präparat darstellten, ergibt sich durch das Studium von Abstrichpräparaten, die feucht fixiert und nach der Methode von Heidenhain gefärbt sind. Die Elementarkörperchen färben sich bei dieser Methode tiefschwarz, die als plastinartig bezeichneten Massen hellgrau. A. Leber und Hartmann (67), die diese Methode zuerst zum Studium des Trachoms anwandten, fanden in derartigen Präparaten die bereits erwähnten hantelförmigen Teilungen. Auch Herzog (49), der diese Methode sehr empfiehlt, gibt äußerst klare, distinkte und elegante Bilder, die er mit derselben erhalten hat. Radziejewsky (91) und gleichzeitig Herzog versuchten die Eisenhämatoxylinfärbung auch für Schnittpräparate anzuwenden und zwar mit gutem Erfolg. Die auf diese Weise von Herzog erhaltenen Bilder zeigen eine weitgehende Übereinstimmung mit denen, welche bei der Eisenhämatoxylinmethode an Abstrichpräparaten gewonnen wurden.

Wolfrum (112) fiel es bei derartigen Schnittpräparaten auf, daß bedeutende Größenunterschiede an den einzelnen, den Einschluß zusammensetzenden Körnchen zu konstatieren waren und zwar waren gewöhnlich am Rande auffallend große Formen vorhanden (Randformen). Wolfrum führte das darauf zurück, daß diese am Rande gelegenen Formen besser ernährt waren, als die zentralen. Eingehende Untersuchungen an Schnittpräparaten wurden von Lindner (72) ausgeführt, der hierfür in erster Linie die von ihm angegebene Kontrastfärbung benutzte. Lindner schildert die dabei ge-

wonnenen einzelnen Stadien der Einschlüsse folgendermaßen. Im Protoplasma der Epithelzellen treten zunächst runde, scharf begrenzte, sich blau färbende Gebilde von Kokkengröße auf (Tafel IV Fig. 3, Abbildung von Lindner), die jedoch auch erheblich kleiner sein können; dieselben treten einzeln, als Doppelformen oder zu Häufchen gruppiert auf und liegen von Beginn an in einem meist deutlich sichtbaren Hohlraum des Epithelzellprotoplasmas. Diese Formen, welche Lindner als Initialkörper bezeichnet, vermehren sich durch Teilung und lagern dann wie ein Kokkenhaufen in einem gewöhnlich kugelförmigen Hohlraum im Zellprotoplasma eingebettet. In ihrer Mitte entsteht schließlich eine Lichtung, in der sehr feine Körnchen (Elementarkörperchen) auftreten. Auf späteren Stadien sind die Initialkörper nur noch an der Wand der Einschlußhöhle zu finden (Randformen Wolfrum's), während das Zentrum von den Elementarkörperchen eingenommen wird. In dem Maße, wie sich die Elementarkörperchen vermehren, und damit die zentrale Masse zunimmt, nimmt die Zahl der wandständigen, anfangs dichtgedrängten Initialkörperchen ab, schließlich fehlen sie ganz. Auf Taf. IV Fig. 4 sind bei b die blaugefärbten (Giemsa-Methode für Schnittpräparate) Initialkörper zu sehen, bei a ein großer Einschluß, der fast nur aus Elementarkörperchen besteht, die Spitze des Pfeiles zeigt auf eine Stelle, wo eine hantelförmige Teilung der Elementarkörperchen zu sehen ist.

Lindner, der das Verhalten dieser Initialkörper sehr genau verfolgt hat, fand dieselben sowohl in Schnitt- wie in Abstrichpräparaten, und gab sehr instruktive Bilder, welche das morphologische Verhalten illustrieren. Es finden sich danach folgende Typen: Scheibchen mit Randfärbung (Ringformen) mit bipolarer Färbung (diplokokkenähnliche Formen) ebensolche längliche Gebilde (Stäbchenformen) dieselben mit seitlicher Eindellung (Biskuitformen) schließlich Scheibchen mit einseitiger sichelförmiger Randfärbung (Sichelformen). Wenn man die Ringform als die Ausgangsform betrachtet, so lassen sich aus den angegebenen und in Fig. 8 schematisch (nach Lindner)

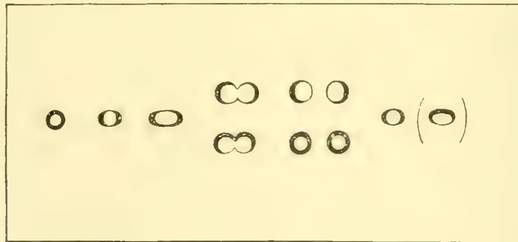


Fig. 8.

abgebildeten Typen die Teilungsvorgänge rekonstruieren. Neben Ringformen mit völlig gleichmäßiger Randfärbung sind solche mit ausgesprochener bipolarer Protoplasmahäufung zu sehen, welche sich weiterhin in die Länge strecken, sich biskuitförmig eindellen, schließlich völlig einschnüren und dadurch in zwei neue kreisförmige zunächst dicht nebeneinandergelegene Ringformen zerfallen, bei denen das Protoplasma zunächst nur einseitig sichelförmig angeordnet ist. Aus diesen entstehen durch gleichmäßige Verteilung des Protoplasmas die ursprünglichen Ringformen, an denen sich der ganze Prozeß wiederholt. Die Änderung der Protoplasmaverteilung kann auch während der Abschnürung vor sich gehen, dann bilden sich Achterformen, welche nach der Teilung sofort zwei Ringe mit gleichmäßiger Protoplasmaverteilung bilden. Alle diese Gebilde sind nicht nur in den Epitheleinschlüssen anzutreffen, sondern, wie Lindner nachgewiesen hat, kommen sie auch extracellulär im Gewebe vor und werden auch in Sekretausstrichen als freie Formen häufig sehr zahlreich vorge-

funden. Hier machen die bipolar gefärbten Stadien oft den Eindruck von Diplokokken und da sie mitunter zu Haufen gelagert sowohl frei wie innerhalb von Epithelzellen sich präsentieren, können bei oberflächlicher Betrachtung Verwechselungen mit Gonokokken vorkommen. Taf. IV Fig. 5 (Abbildung von LINDNER).

Mitunter finden sich innerhalb der Einschlüsse größere, nach GIEMSA rot, nach der Methode von MALLORY blau färbbare Gebilde, welche mit der Zunahme der sich teilenden Elementarkörperchen an Größe abnehmen und welche von PROWAZEK und HALBERSTAEDTER als Restkörper bezeichnet und als ein bestimmtes Entwicklungsstadium angesehen wurden (Taf. IV Fig. 6). LINDNER faßt diese Gebilde, da sie nur in einem Teil der Einschlüsse beobachtet werden und infolge ihres tinktoriellen Verhaltens (sie färben sich mit Methylgrün), nicht als Entwicklungsstadien der Parasiten, sondern als abgesprengte Kernstücke auf.

An den Epithelien der trachomatösen Bindehaut beobachtet man häufig pathologische Veränderungen, worauf besonders GREEFF, WOLFRUM und FLEMMING aufmerksam machen. FLEMMING fand die Epithelien gequollen, den Kern vergrößert, in Teilung oder Zerfall begriffen. Die Kerne färben sich nach GIEMSA nicht so intensiv und sind meist heller und rötlich gefärbt. FLEMMING hält diese Veränderungen für das Primäre und nimmt an, daß erst auf diesem Boden die Trachomkörperchen gedeihen und weiter vorzudringen vermögen. Auch CECCHETTO beobachtete häufig deutliche Karyorrhexis, während HERZOG betont, daß in den befallenen Epithelzellen weder optisch-physikalisch noch mit Hilfe mikrochemischer Reaktionen Zeichen von Degenerationen oder Nekrose zu erkennen sind, dagegen beobachte man eine große Zahl von Mitosen in den Epithelzellen. Außer den bisher besprochenen Formen sind in der Literatur noch einige andere beschrieben, die hier kurz erwähnt werden müssen.

BERTARELLI und CECCHETTO (7 u. 8) bilden Epithelzellen ab, in welchen gegen das Ende der Zellen und unabhängig vom Kern mehr weniger scharf umschriebene, unregelmäßige, dreieckige, kompakte Körper von rötlichvioletter Farbe zu sehen sind. Diese Gebilde gleichen, wie BERTARELLI und CECCHETTO selbst betonen, kaum den eigentlichen Trachomeinschlüssen und werden auch von diesen Autoren nicht für spezifisch gehalten, sondern für Degenerationsprodukte, welche zwar nicht ausschließlich, aber besonders häufig beim Trachom vorkommen.

FLEMMING (20) beschreibt bei der infizierten Affenconjunctiva Gebilde, welche er für abweichend von den beim Menschen gefundenen hält. Er beobachtete zahlreiche kleine, wenig differenzierte Haufen, zum Teil in unregelmäßigen Ringen, Rosetten und anderen Figuren angeordnet, kleiner als die entsprechenden gleichen Formen beim Menschen. Nach der Abbildung handelt es sich wahrscheinlich, wenigstens zum Teil, um Initialkörperchen.

GREEFF (33) sah in den LEBER'schen Zellen kleinste, sehr dunkle Pünktchen, welche die Neigung haben, sich wie Kokken zu zweien aneinanderzulegen, ferner Doppelkörnchen im Schnitt sich an die roten Blutkörperchen anschmiegend, ferner Doppelkörnchen frei im hängenden Tropfen. Bei allen diesen Gebilden fehlen genügende Charakteristika, welche sie als spezifisch erkennen ließen: GREEFF selbst hat in späteren Publikationen diesen Befunden keine sehr große Bedeutung mehr beigemessen.

ADDARIO (2) beschreibt kugelige, ovale, hauben- oder hutartige Einschlüsse in den Epithelien, die verschieden groß sind, aber nie die Größe des Kerns erreichen. Derartige „Einschlüsse", die er für echte „Trachomkörperchen" hält, fand er beim Trachom aber auch bei gewöhnlichen Conjunctividien und in normalen Bindehäuten. Weder die Beschreibung, noch die Abbildungen ADDARIO's lassen aber darauf schließen, daß es sich in allen seinen Epitheleinschlüssen wirklich um die spezifischen Gebilde handelt, vielmehr ist anzunehmen, daß er alle möglichen banalen Zelleneinschlüsse

mit dazu gerechnet hat, soweit sich das nach den etwas rohen und schematisierten Abbildungen beurteilen läßt.

Jancke (57) hat in den gonorrhöisch erkrankten Epithelien der Urethra Einschlüsse gefunden, die er für ähnlich mit den Trachomkörpern sowie mit den Wut- und Pockenkörperchen aussieht. Nach der kurzen Beschreibung, die Jancke gibt, handelt es sich jedenfalls nicht um Chlamydozoen, sondern um irgendwelche unspezifischen Einschlüsse.

Beim ansteckenden Scheidenkatarrh der Rinder beobachtete Blaha (9) in den Epithelien Veränderungen, die er in eine Parallele zu den beim Trachom gefundenen setzte, und denen er eine ätiologische Bedeutung zuschrieb. Aus den zahlreichen Abbildungen Blaha's ist ersichtlich, daß es sich nicht um Einschlüsse handelt, die mit den Trachomkörperchen in Übereinstimmung stehen, sondern eher um Veränderungen der Zellen, die eine große Ähnlichkeit mit den oben erwähnten Degenerationsprodukten haben, welche Bertarelli und Cecchetto besonders häufig beim Trachom fanden.

Methoden der Darstellung.

Untersuchung frischer Präparate im ungefärbten Deckglaspräparat oder im hängenden Tropfen ist von einigen Autoren vorgenommen worden, ohne daß sich dabei besondere charakteristische Eigenschaften ergeben hätten. Greeff fand bei dieser Methode frei im Sekret und innerhalb der Leber'schen Zellen kleinste, an der Grenze der Sichtbarkeit liegende, punktförmige Gebilde, die häufig diplokokkenähnlich waren. Bertarelli und Cecchetto gewannen bei Frischpräparaten den Eindruck, als ob im Protoplasma der Epithelzellen eine besondere, sich von den übrigen Teilen durch Refringenz und körnige Beschaffenheit abhebende Zone vorhanden wäre, bei der sich aber weder durch Zusatz von schwachen Alkalien noch bei ultramikroskopischer Untersuchung irgendwelche Details erkennbar machen ließen. Bewegliche Körnchen konnten weder von Bertarelli und Cecchetto beobachtet werden, noch konnte Lindner im nativen Präparate an seinen freien Initialkörperchen eine Eigenbewegung feststellen.

Mit Hilfe des Tuscheverfahrens von Burri kann Flemming (20) die Trachomkörperchen gut zur Darstellung bringen und auch Lindner konnte mit dieser Methode die freien Initialkörperchen in sehr charakteristischer Weise sichtbar machen.

Die Trachomchlamydozoen färben sich mit fast allen Kernfarbstoffen und werden nach der Gram'schen Methode entfärbt. Zu ihrer färberischen Darstellung in gewöhnlichen Abstrichpräparaten findet die Giemsa'sche Methode resp. Modifikationen derselben die meiste Verwendung. Von besonderer Bedeutung für die Gewinnung guter Präparate ist die Entnahme des Materials, bei der es darauf ankommt, möglichst viel Epithelzellen zu erhalten. Zu diesem Zweck überfährt man schabend, möglichst in e i n e m Zuge die Conjunctiva des umgestülpten Lides mit dem Rand eines nicht zu dünnen Deckgläschens resp. Objektträgers oder noch besser mit einem eigens dazu konstruierten Platiniridiummesser (Greeff). Bei starker Sekretion der erkrankten Bindehäute ist es zweckmäßig, das Auge durch gründliche Reinigung mittels indifferenter Flüssigkeiten möglichst sorgfältig vom Eiter zu befreien (Heymann), sonst erhält man in den Präparaten überwiegend Eiter und Schleim, dagegen keine Epithelien, auf die es gerade ankommt. Aus demselben Grunde muß man auch Blutungen bei der Entnahme vermeiden, was allerdings bei stark entzündlichen Schleimhäuten nicht immer möglich ist. Das gewonnene Material wird auf Deckgläschen oder Objektträger nach Art von Blutpräparaten ausgestrichen, d. h. in einem glatten Zuge unter Vermeidung von zu starkem Druck. Verreiben des Materials etwa mit der Platinöse wie beim Anfertigen von bakteriologischen Präparaten ist ganz unzweckmäßig. Die luft-

trockenen Präparate werden 10 Min. mit Methylalkohol oder Alkohol abs. oder Alkohol abs. und Äther aa fixiert und danach mit Filtrierpapier getrocknet.

Färbung nach Giemsa.

Die ältere Giemsa'sche Methode, wie sie von Halberstaedter und Prowazek, Greeff, Frosch und Clausen anfänglich benutzt wurde, gibt sehr gute Resultate. Die Präparate kommen für sechs Stunden in eine jedesmal frisch zu bereitende Mischung von:

1. 12 Teile Giemsa's Eosinlösung (2,5 ccm 1% ige französ. Eosinlösung auf 500 ccm aq. dest.),
2. 3 Teile Azur I (1: 1000),
3. 3 Teile Azur II (0,8: 1000).

Abspülen mit Wasser, Trocknen mit Fließpapier.

Greeff (35) färbt sechs bis neun Stunden bei einer Temperatur von 37° oder drei Stunden bei 56° mit derselben Mischung.

Einfacher in der Anwendung und ebenso gute Bilder liefernd ist die Verwendung der fertig käuflichen Giemsa-Lösung (Grübler-Leipzig).

Herzog (49) verdünnt dieselbe 1: 40 mit aq. dest. und färbt 1—1½ Std. im Brutschrank bei 37°. Heymann verwendet dieselbe Methode oder färbt mit einer Verdünnung von 1: 20 ¾ Std. bei Zimmertemperatur. Bertarelli und Cecchetto bevorzugen dünne Lösungen (1 Tropf. auf 10 ccm Wasser) und färben 24 Std.

Das färberische Verhalten der Einschlüsse bei der gewöhnlichen Giemsa-Färbung ist bereits oben ausführlicher beschrieben.

Um überwiegend die Initialkörperchen deutlich sichtbar zu machen, gibt Lindner (73) eine von ihm als Kontrastfärbung bezeichnete Modifikation an, welche auf der starken Basophilie der Initialkörperchen beruht. Von den verschiedenen Möglichkeiten, dieses Verhalten der Initialkörperchen zu einer färberischen Darstellung zu benutzen, hat sich ihm entsprechendes Ansäuern einer an basischem Farbstoff überwiegenden Lösung am meisten bewährt. Die lufttrocknen, mit Alkohol abs. fixierten Deckglasausstriche werden auf folgender Lösung schwimmen gelassen:

A. 10 ccm aq. dest.
5 Tropf. Giemsa
1 Tropf. 1 %ige Essigsäure

Färbung 1 Std. Abtrocknen und Einschließen in Cedernöl, eventuell rasches Abspülen in Alkohol abs. vor dem Einschließen.

Oder Färben mit folgender Lösung:

B. 10 Tropf. Giemsa
10 Tropf. ½ %ige Essigsäure.

10 Min., Abspülen mit aq. dest. eventuell mit Alkohol abs. trocknen, Einschließen.

Mit diesen Methoden färben sich Bakterien, Einschlüsse und Mastzellgranula dunkelblau, Kerne der Lympho- und Leucocyten blau-bläulich, Epithelzellkerne etwas weniger rosa wie ihr Protoplasma. Da nur die Initialkörperchen sich stark basophil verhalten, hängt die Färbeintensität des Einschlusses davon ab, ob noch viele Initialkörperchen vorhanden sind; in den großen Einschlüssen, die überwiegend aus Elementarkörperchen bestehen, ist die Färbung eine zart blau punktierte, da die Elementarkörper noch von einer feinen blauen Hülle umgeben sind (Lindner).

Diese selben Präparate lassen sich noch nachträglich der gewöhnlichen Giemsafärbung unterwerfen. Das Cedernöl wird durch Xylol entfernt und dieses durch 10 Sekunden langes Behandeln mit Alkohol abs. beseitigt, dann trocknen und schwimmen lassen auf:

5 Tropf. Giemsa
10 ccm aq. dest.

ca. 1½ Std., dann Abspülen mit Aceton oder Alkohol abs. oder:

2 Tropf. Giemsa
15 ccm aq. dest.

1—2 Tage. Trocknen und direktes Einschließen.

Flemming (20) schlägt getrennte Färbung und Differenzierung vor:

Färben mit der alten Giemsa-Lösung 5 Std., Abspülen mit Wasser und getrenntes Differenzieren mit Alkohol abs. und 1 %ige Essigsäure unter Kontrolle des Mikroskopes bis nur noch Zellkerne und Trachomkörperchen deutlich sichtbar sind. Kerne rotviolett, Trachomkörperchen dunkelblau oder rot, je nach dem Stadium.

Gallenga (25) empfiehlt Färbung mit Eosin-Methylenblau nach Leishman oder May-Grünwald (Grübler) in Verdünnungen von ⅓ : ⅔ aq. dest. bei einer Färbedauer von 10—15 Minuten, Abspülen in reichlichem destillierten Wasser, Abtrocknen, schnell Xylol und Kanadabalsam. Die Leishman'sche Färbung wird auch von Verhoeff empfohlen.

Von übrigen Färbemethoden liefert nach A. Leber und Hartmann (67) die Färbung mit Heidenhain's Eisenhämatoxylin nach feuchter Fixierung in Sublimatalkohol oder Hermann'scher Flüssigkeit ausgezeichnete Resultate.

Für die Färbung von Schnittpräparaten benutzen Radziejewski (91) und Herzog das Eisenhämatoxylinverfahren. Herzog (49) gibt folgende Vorschrift:

Fixieren der möglichst kleinen Exzisionsstückchen in bis auf 50° erwärmter Sublimatlösung (3% + 3% Eisessig) 1 Std. Abspülen in Wasser, rasches Überführen durch verdünnten Alkohol in Alkohol abs. Nachfixation in Alkohol abs. 1 Std. Jodierter Alkohol abs. Auswaschen des Jods in Alkohol abs. Helles Anilinöl bis zu vollständiger Transparenz des Stückchens unter mehrfachem Wechsel des Anilinöl. Wiederholt gewechseltes Xylol längstens 1 Std. Weichparaffin 1½ Std. Einlegen in einen mit gelöstem Hartparaffin gefüllten Napf, dessen ebener Boden mit Paraffin ausgestrichen ist; nach 1 Std. wird das Paraffin in dem Napf zum Erstarren gebracht. Herstellung von Schnitten von nicht über 5 μ. Färben der aufgeklebten Schnitte in zur Hälfte verdünnten Hämatoxylin Weigert, 2—3 Tage. Differenzieren in Eisenalaunlösung (1½—4%) oder 30% Essigsäure. Es muß das Chromatingerüst der ruhenden Epithelzellkerne noch eine deutliche Hämatoxylinfärbung behalten.

Lindner (73) benutzt zur Schnittfärbung von Stücken, die in Sublimat oder Formol fixiert waren, seine Kontrastfärbung. Färben 12—48 Std. in Lösung A (s. o.). Wässern in aq. dest. ½—1 Std. Alkohol abs. Xylol. Cedernöl. Gute Resultate liefert ferner die von Giemsa (28 u. 29) für Schnittpräparate angegebene Färbungsmethode (Giemsa, Halberstaedter und Prowazek, Lindner).

Lindner färbt auch mit einer Lösung von 2 Tropf. Giemsa auf 15 ccm aq. dest. 1—2 Tage, Entwässern mit Aceton, Aceton-Xylol, Xylol.

Gallenga (25) bekommt gute Resultate mit May-Grünwald'scher Lösung.

Im Anschluß an die Methoden der Darstellung sei erwähnt, daß bisher eine sichere Kultur der Trachomchlamydozoen noch nicht gelungen ist, alle Autoren, die sich damit versucht haben, berichten über negative Resultate, nur Schiele erwähnt auf dem

Kongreß in Budapest 1909, daß er den Trachomerreger in Bouillon züchten und damit bei Hunden Trachom erzeugen konnte.

Von anderen Eigenschaften des Virus, die im vorhergehenden noch nicht berührt worden sind, seien noch einige Angaben nachgeholt. Da die experimentellen Untersuchungen noch relativ jungen Datums sind, und sich nur wenige Autoren bisher mit solchen beschäftigt haben, sind noch viele Fragen nicht geklärt und die Angaben z. T. noch widersprechend. So berichten Hess und Römer (53), daß sie mit 24 Std. altem Impfmaterial, sowie mit Material, das $^1/_2$ Std. auf 58—65° erhitzt worden war, Affen nicht mehr infizieren konnten, während nach den Untersuchungen von Bertarelli und Cecchetto (7) das Trachomvirus eine viel größere Resistenz zeigt, da sie noch mit über 2 Tage altem Material positive Resultate bei Affenimpfungen erzielten.

Ebensowenig einheitlich sind die Filtrierversuche, die mit trachomatösem Material vorgenommen worden sind, ausgefallen. Während Pfeiffer und Kuhnt, Fermi und Repetto, Bajardi sowie Hess und Römer nach ihren Versuchen auf eine Unfiltrierbarkeit des Trachomvirus schlossen, konnten Bertarelli und Cecchetto die Filtrierbarkeit desselben durch Affenimpfung demonstrieren. Diese Autoren benutzten als Ausgangsmaterial abgeschabte Granulationen einer trachomatösen Affenbindehaut, mazerierten dasselbe 50 Std. bei kühler Temperatur mit einem geringen Quantum physiologischer Kochsalzlösung an und filtrierten durch Berkefeld-Kerzen. Das Filtrat war für die Affenconjunctiva infektiös, indem sie ein deutliches Trachom erzeugte.

Das Verhalten gegen taurocholsaures Natron (10%) prüfte Lindner (74) und fand, daß nach einer Einwirkung von wenigen Minuten eine Darstellung der Initialkörperchen im Schnitt nicht mehr möglich war. Halberstaedter und Prowazek erzielten bei einem Orang-Utan einen positiven Impfeffekt mit einem Trachommaterial, das vor der Verimpfung 15 Min. mit 10%iger Lösung von taurocholsaurem Natron gemischt worden war. Es sei aber erwähnt, daß auch bei der Vaccine die Guarnieri'schen Körperchen durch konzentriertere Kochsalzlösungen, sowie durch Trypsin und Pepsin unsichtbar gemacht werden, daß das Material aber trotzdem noch infektiös bleibt.

Vorkommen und Bedeutung der Einschlüsse.

Das ungewohnte Bild, das die Trachomeinschlüsse zunächst darbieten, sowie kleine Schwierigkeiten bei der Anfertigung der Präparate sind die Ursache dafür, daß einigen Untersuchern das Auffinden resp. Erkennen der Gebilde nicht geglückt ist, und daß daher von diesen ihr regelmäßiges Vorkommen überhaupt geleugnet wird. Unter den Autoren, welche die Einschlüsse auffanden, herrschen aber sehr differente Anschauungen bezüglich der Auffassung, die man von diesen Gebilden haben müsse. Die Streitfragen, die für alle Chlamydozoenerkrankungen bestehen, ob es sich nämlich bei den Zelleinschlüssen um Lebewesen oder um Reaktionsprodukte resp. Degenerationsprodukte handelt, ist auch für die Trachomeinschlüsse lebendig. So sprechen Kiribuchi und ebenso Kodama die Einschlüsse als Zerfallsprodukte der Zellkerne an. Bertarelli und Cecchetto betrachten die Einschlüsse mit größerer Wahrscheinlichkeit als parasitäre Elemente, denn als reaktive Produkte. Heymann hält die Einschlüsse weder für spezifisch, noch sieht er irgendeinen Anhaltspunkt dafür, daß es sich um Lebewesen handelt; die „Entwicklung" der Gebilde sei nur hypothetische Kombination. Ebenso vermißt zur Nedden noch Beweise für die belebte Natur der Körperchen und auch Uhthoff, Pfeiffer, C. Fränkel u. a. verhalten sich der belebten Natur und der Spezifizität der Einschlüsse gegenüber noch sehr ablehnend.

Zu den bereits oben angegebenen Gründen, welche Veranlassung gegeben haben, die Einschlüsse für parasitär zu halten, kommen noch einige weitere Stützpunkte hinzu. Zunächst ist zu bemerken, daß in der ganzen Cytologie derartige Einschlüsse in normalen oder pathologischen Fällen bisher nicht beobachtet worden sind, und daß Chromidienbildungen, welche zu solchen, stets in derselben charakteristischen Weise durch Verimpfung erzeugbaren Formen führen, bisher nicht gesehen worden sind (Hartmann). Weiterhin sprechen die offenbaren Teilungsvorgänge, wie sie schon anfangs erwähnt und späterhin von A. Leber und Hartmann, Lindner u. a. bestätigt und erweitert worden sind, für die belebte Natur der Gebilde. Ferner kann die Möglichkeit, daß es sich um Regenerations- resp. Degenerationsprodukte der Zelle handelt, natürlich nur für die innerhalb der Epithelzellen gelegenen Einschlußformen, diskutiert werden, für die freien Initialformen kommt sie aber gar nicht in Frage. Daher betont auch Lindner (74) mit Recht, daß nach der Auffindung der freien Initialkörperchen mit ihren eigenartigen Teilungsvorgängen die belebte Natur der Gebilde nicht mehr bezweifelt werden kann.

Nun wird aber eingeworfen, daß noch immer das Koch'sche Erfordernis zum Beweis für die belebte Natur aussteht, nämlich die Isolierung und die gelungene Infektion mit der Reinkultur. Abgesehen davon, daß bei einer Reihe von Protozoenerkrankungen bisher die Kultur überhaupt noch nicht gelungen ist, oder daß dort, wo dies der Fall ist, wie z. B. bei Halteridium der Eule und Treponema pallidum die Frage nach der Ätiologie durch die Kultur in keiner Weise gefördert wurde, haben wir einen gewissen Ersatz für Experimente mit Kulturen in der passageweisen Überimpfung von Tier zu Tier. Wenn wir durch fortlaufende passageweise Infektionen immer wieder in derselben Weise die Einschlüsse experimentell erzeugen können, wenn wir sie ferner n u r erzeugen können mit einem Material, in dem die Chlamydozoen sicher vorhanden oder mindestens zu vermuten sind, aber nie mit Material, das s i c h e r frei von denselben ist, so müssen wir auch diesen experimentellen Resultaten eine gewisse Beweiskraft einräumen. Solche passageweisen Impfungen unter mikroskopischer Kontrolle sind von Halberstaedter und Prowazek sowie von Lindner ausgeführt worden und auch die Versuche von Flemming (20) sind sehr lehrreich, dem es nicht gelang, experimentell Einschlüsse in der Affenconjunctiva hervorzurufen, wenn das Impfmaterial sicher frei von Chlamydozoen war. Außerdem konnten stets sowohl beim Menschen (Greeff, Wolfrum) wie bei Tieren mit Sicherheit die typischen Einschlüsse erzeugt werden, wenn solche auch im Ausgangsmaterial nachgewiesen waren.

Der Haupteinwurf gegen die parasitäre Natur und die ätiologische Bedeutung der Einschlußgebilde ist von Heymann (54) gemacht worden, der dieselben zunächst in a l l e n Fällen gonorrhöischer Säuglingsblennorrhöe gefunden hatte. Gerade durch diesen sehr gewichtigen Einwand Heymann's ist aber die morphologische und experimentelle Erforschung bestimmter Form der Säuglingsblennorrhöe und infolge davon auch gewisser Genitalkatarrhe angeregt worden, die nicht nur eine wesentliche Bereicherung und Klärung vieler hierhergehöriger Fragen herbeiführte, sondern auch der Annahme von der belebten Natur und der ätiologischen Bedeutung der Chlamydozoen in keiner Weise widerspricht. Gerade durch das Einbeziehen bestimmter Blennorrhöeformen in die Trachomforschung, sind auf diesem Gebiete neue Gesichtspunkte gewonnen worden und es ist das Verdienst Heymann's, diese Frage angeschnitten zu haben. Es läßt sich jedenfalls auf Grund der zahlreichen Untersuchungen und der Tierexperimente, die bisher vorliegen, sagen, daß keine einzige Beobachtung vorläufig mit S i c h e r h e i t gegen die belebte und die parasitäre Natur der Gebilde zu verwerten ist, daß dagegen sehr viele Momente für eine solche Annahme sprechen.

Die oben ausgeführte Anschauung, daß es sich bei den Einschlüssen um zwei absolut verschiedene Komponenten handelt, eine plastinartige, unbelebte, als Reaktions-

produkt der Zelle aufzufassende und eine sich morphologisch und tinktoriell anders verhaltende Komponente, welche als belebt anzusehen ist (Elementarkörperchen), wurde von einer Reihe von Autoren: Greeff, Frosch und Clausen, A. Leber und Hartmann, Herzog u. a. akzeptiert und von ihnen auch die bereits geschilderte Entwicklung innerhalb der Epithelien angenommen. Zu den beiden genannten Komponenten tritt nach Herzog (49) noch eine dritte Substanz hinzu, in welche die Elementarorganismen eingebettet sind. Diese Substanz umgibt als helle, strukturlose, im Giemsa-Präparat und bei Hämatoxylinfärbung ungefärbt bleibende Masse in Form eines lichten Saumes die Elementarkörperchen und bewirkt, daß diese auch in den größeren Einschlüssen, wo das Plastin bereits spärlich ist, in ihrer gegenseitigen Lage und Anordnung bleiben und nicht zusammensintern. Zu den Elementarorganismen tritt diese Substanz jedoch nicht in engere Beziehung, sondern stellt nur das indifferente Medium dar, in das dieselben suspendiert sind. Im Gegensatz dazu schlägt sich die als plastinartig bezeichnete Substanz auf den Elementarkörpern nieder und überzieht dieselben nach Art einer Hülle. Die Abscheidung des Plastins ist entweder sehr reichlich, so daß grobe, klumpige Bröckel entstehen, oder nur sehr dürftig. In jedem Falle stellen die Plastinsubstanzen ursprünglich eine Abwehrvorrichtung der Wirtszelle dar, werden aber von den Elementarkörperchen als Nährsubstanz benutzt, innerhalb deren sie sich gut entwickeln und durch Teilung lebhaft vermehren können. Außerhalb der Epithelzellen dagegen, wo die günstigen Nahrungsbedingungen fehlen, sind die Elementarkörperchen nicht entwicklungs- und vermehrungsfähig (Herzog).

Eine andere Auffassung entwickelt Lindner (71, 74). Auf Grund seiner Studien an den Initialkörperchen hält er die als Plastin bezeichnete Substanz nicht für ein Zellprodukt, sondern für einen Bestandteil des Parasiten selbst. Zu Beginn besteht der Einschluß nur aus Initialkörperchen, erst später treten die Elementarkörperchen auf. Lindner läßt die Frage, in welcher Weise die Elementarkörperchen aus den Initialformen entstehen, vorläufig noch offen. Möglicherweise entstehen die Elementarkörperchen, welche nur in den zentralen Teilen der Einschlüsse zu sehen sind, dann, wenn unter ungünstigen Nahrungsbedingungen sich weniger wachstumsfähige, aber möglicherweise dauerhaftere Formen ausbilden. Lindner möchte aber die Elementarkörper nicht als eine zweite, sich selbständig vermehrende Generation auffassen.

Flemming erkennt das Bestehen einer Entwicklung nicht an, er unterscheidet drei Typen von Einschlüssen. Typ 1 entspricht den Initialformen, als Typ 2 werden die kleinen kappenförmigen Einschlüsse mit noch reichlich vorhandenem Plastin, als Typ 3 die ausgebildeten haubenförmigen Einschlüsse, welche überwiegend aus Elementarkörperchen bestehen, bezeichnet.

Die Zelleinschlüsse sind zunächst nur beim Trachom gefunden worden, während sie bei anderen Augenerkrankungen und in der normalen Conjunctiva vermißt wurden. Abgesehen von einigen Untersuchern, welche die Einschlüsse beim Trachom überhaupt nicht fanden, wurden von allen Autoren in den ersten Jahren das ausschließliche Vorkommen beim Trachom betont. Am leichtesten und konstantesten werden die Einschlüsse bei frischen unbehandelten Fällen gefunden, wie fast alle Autoren übereinstimmend erklären, während sie bei bereits behandelten oder inveterierten Fällen schwerer nachweisbar sind. Die Angaben der einzelnen Autoren über die Häufigkeit des gelungenen Nachweises der Einschlüsse beim Trachom weichen z. T. erheblich voneinander ab. So waren — um aus der großen Menge von Publikationen nur einige statistische Angaben herauszugreifen — bei Dreyer und Meyerhoff sämtliche frischen Fälle positiv, alte Fälle in 60% positiv, bei Finlay von 10 unbehandelten Fällen alle positiv, ein behandelter negativ, bei Grüter unter 30 unbehandelten, frischen Fällen 21 positiv, bei Gutfreund unter 106 Fällen 47 positiv, bei Bertarelli und Cecchetto unter 6 frischen Fällen alle positiv, die Einschlüsse aber nur sehr spärlich, unter 10 alten Fällen

alle negativ, bei Flemming unter 10 unbehandelten Fällen 8 positiv, unter 58 behandelten 7 positiv, bei Thierfelder unter 25 Fällen 18 positiv, 2 negativ, 5 zweifelhaft; bei Heymann unter 15 ganz frischen unbehandelten Fällen 10 positiv, bei A. Leber und Hartmann 80—90% positiv — Cecchetto sowie Reiss betonen, daß nur bei frischen Trachomfällen positive Befunde erhoben werden, während sie bei alten Fällen selbst in dem Stadium der Exazerbation negativ ausfallen. In dieser Verallgemeinerung ist das Verhalten sicher nicht zutreffend, da auch in alten, inveterierten Fällen Einschlüsse gefunden wurden, allerdings viel seltener als in frischen unbehandelten Fällen.

Von fast allen Autoren sind wohl auch Untersuchungen an normalen Bindehäuten und nichttrachomatösen Erkrankungen angestellt worden. Mit Ausnahme von Addario ist in normalen menschlichen Conjunctiven von keinem der zahlreichen Autoren das Vorhandensein typischer Zelleinschlüsse erhoben worden und es muß dahingestellt bleiben, ob es sich bei den von Addario gesehenen Einschlüssen wirklich um die typischen Gebilde gehandelt hat (s. o.). Von großer Bedeutung sind die in ausgedehntester Weise von Greeff und seinen Mitarbeitern ausgeführte Kontrolluntersuchungen, nach denen die typischen Einschlüsse nur bei trachomatösen Erkrankungen gefunden wurden. Stargardt (104) war der erste, der die Einschlüsse auch in einem Falle von leichter Blennorrhoea neonatorum ohne bakteriellen Befund feststellte. Zur Nedden berichtete dann, daß er in zwei Fällen die Einschlüsse gesehen habe, bei denen es sich nicht um Trachom handelte. In dem einem Falle handelte es sich um eine Conjunctivitis bei einem Erwachsenen, ohne bakteriellen Befund, in dem anderen um eine croupöse, auf Streptokokkeninfektion beruhende Conjunctivitis bei einem zweijährigen Kinde. Auf Grund dieser Befunde hält zur Nedden die Einschlüsse für unspezifisch. Thierfelder fand bei Untersuchungen unter Leitung von Peters die Einschlüsse zweimal bei Conjunctivitis sicca, einmal bei einem akuten Frühjahrskatarrh. Da die Stellung der Conjunctivitis sicca zum echten Trachom noch nicht genau fixiert ist, und es sich möglicherweise — wie Peters annimmt — bei manchen Fällen um Abortivformen des Trachoms handelt, sind diese Befunde nicht gegen die Spezifizität der Einschlüsse zu verwerten.

Die bereits erwähnte Beobachtung von Stargardt, der Einschlüsse bei einer Blennorrhoea neonatorum fand, ist längere Zeit vereinzelt geblieben, bis Heymann (54) bei vier Fällen unbehandelter Blennorrhoea neonatorum, welche klinisch und bakteriologisch als sicher gonorrhoische bezeichnet wurden, denselben Befund erheben konnte. Auf Grund dieser Tatsache brachte Heymann die Einschlüsse mit dem gonorrhoischen Prozeß in Zusammenhang, hielt sie für Reaktionen der Zelle auf das gonorrhoische Virus und trat damit der Annahme einer parasitären Natur entgegen. Bei der Nachprüfung dieser Heymann'schen Beobachtung konnten Halberstaedter und Prowazek feststellen, daß die Einschlüsse keineswegs die konstanten Begleiter gonorrhoischer Prozesse sind, und daß man weder in allen Fällen gonorrhoischer Bindehauterkrankungen noch in solchen gonorrhoischer Genitalaffektionen die Einschlüsse auffinden kann. Es ergab sich vielmehr, daß man von der reinen Gonokokkenblennorrhöe eine besondere Form blennorrhoischer Erkrankungen abtrennen müsse, bei der man ausschließlich Epitheleinschlüsse bei vollständigem Fehlen irgendwelcher bakteriellen Erreger vorfindet. Zu dieser Gruppe gehört bereits der von Stargardt erwähnte Fall und auch Schmeichler, Lindner, Wolfrum und Schiele berichten über derartige Fälle. Das häufige Vorkommen von Blennorrhöen, bei denen man nur die Einschlüsse findet, spricht für die Selbständigkeit dieser Gebilde und für ihre Unabhängigkeit von dem gonorrhoischen Prozeß. Daß man mitunter neben den Einschlüssen auch Gonokokken (Heymann, Flemming, Gallenga u. a.) oder Pneumokokken (Flemming) oder Diphtheriebazillen (Flemming) findet, spricht nicht gegen die An-

nahme einer selbständigen und ätiologischen Rolle der Einschlüsse und derartige Fälle lassen sich als Mischinfektionen, die uns ja auch sonst nichts ungewöhnliches sind, auffassen. Im weiteren Verlauf der hierhergehörigen Untersuchung zeigte sich ferner, daß man dieselben Einschlüsse auch in den Epithelzellen des Genitaltraktus von Müttern finden konnte, deren Kinder an einer Chlamydozoenblennorrhöe erkrankt waren (Halberstaedter und Prowazek 45). Lindner fand dann auch bei der sog. Urethritis non gonorrhoica des Mannes ähnliche Gebilde und auch W. Siebert berichtet über derartige Beobachtungen. Auch bei den Genitalerkrankungen kann man die Einschlüsse in Gesellschaft von verschiedenen Bakterien, vor allem natürlich von Gonokokken finden (Heymann). Eine weitere Klärung der Bedeutung der Chlamydozoen bei der Ophthalmoblennorrhöe sowie gewisser Genitalaffektionen wurde durch die Ergebnisse der experimentellen Bearbeitung dieser Fragen erreicht.

Die ersten Versuche, Material von gonokokkenfreier Blennorrhoea neonatorum auf Affen zu übertragen, wurden von Lindner (68) ausgeführt, und zwar war es Lindner gelungen, zunächst bei einem Makaken durch Übertragung von einer gonokokkenfreien Augenblennorrhöe eine Conjunctivitis mit Epitheleinschlüssen zu erzeugen, nach deren Ablauf sich deutliche Körner nach Art der Trachomkörner entwickelten. Die weiteren Versuche in dieser Richtung, welche von Fritsch, Hofstaetter und Lindner (23) ausgeführt wurden, ergaben, daß man mit gonokokkenfreier Neugeborenenblennorrhöe, sowie mit dem Vaginalsekret der Mütter derartig erkrankter Kinder, sowie ferner mit Sekret von gewissen gonokokkenfreien Urethritiden des Mannes bei Affen eine Conjunctivitis erzeugen kann, und daß es gelingt, in den Epithelien der infizierten Conjunctiva die typischen Einschlüsse nachzuweisen. Nach dem Verlauf der Erkrankung bei den geimpften Affen beschreiben Fritsch, Hofstaetter und Lindner zwei Typen. Erstens eine nach einer Inkubation von 3—5 Tagen einsetzende eitrige Conjunctivitis, der sich nach etwa drei Wochen eine mäßige Körnerbildung anschloß, wobei die Dauer des Prozesses eine relativ kurze war. Ein derartiges Verhalten zeigten die Conjunctiviten nach Infektion mit Material von der gonokokkenfreien Neugeborenenblennorrhöe (Chlamydozoen- oder Einschlußblennorrhöe). Der zweite Typus setzte gewöhnlich etwas später (7—11 Tage) ein, verlief mehr chronisch mit anschließender, auffallend starker Körnerbildung. Die Dauer erstreckte sich auf mehrere Monate. Nach diesem Typ verlaufen die direkten Übertragungen vom Genitaltrakt auf die Affenbindehaut.

Auf Grund der Übereinstimmung der morphologischen Befunde und der Übertragbarkeit auf Affen mit gleichem morphologischen Bild (Einschlüsse und freie Initialformen) ferner der weiteren Verimpfbarkeit von Tier zu Tier, halten es Fritsch, Hofstaetter und Lindner für zweifellos, daß das aus der Vagina der Mutter, der Conjunctiva der Kinder und der männlichen Urethra auf den Affen übertragene Virus identisch ist. Es wird weiterhin von diesen Autoren angeführt, daß sie bei zwei Pavianen mit derartigen Infektionen eine Veränderung der Bindehaut erzielt hätten, die man beim Menschen zweifellos als Trachom diagnostiziert hätte (Tafel IV Fig. 7, Abbildung von Lindner). Auch die histologischen Bilder, welche Fritsch, Hofstaetter und Lindner von den infizierten Affenconjunctiven geben, zeigen eine weitgehende Übereinstimmung mit denen des menschlichen Trachoms (Tafel IV Fig. 8, Abbildung von Lindner).

Zahlreiche Impfungen mit den eben erwähnten Affektionen der Conjunctiva und der Genitalien hat weiterhin Heymann (55) vorgenommen. Aus seinen Versuchen geht hervor, daß einschlußhaltiges Sekret sowohl von der blennorrhoischen Conjunctiva Neugeborener als auch aus dem Genitalapparat der Eltern derartiger Kinder bei Pavianen und Meerkatzen eine Conjunctivitis hervorrief, welche zuerst blennorrhöeartig dann follikularkatarrhartig verlief und die sich von Affenconjunctiva zu Affen-

conjunctiva weiterverimpfen ließ. In den Epithelien dieser infizierten Affenconjunctiven ließen sich zahlreiche typische Einschlüsse nachweisen. Ebenso konnte Heymann in den Vaginalepithelien von Affen, welche in derselben Weise genital infiziert wurden, Einschlüsse konstatieren. Heymann erhebt aber trotzdem Bedenken gegen die zuerst von Lindner ausgesprochene Anschauung, daß das Trachom und die Einschlußblennorrhöe der Neugeborenen sowie die zugehörigen Genitalaffektionen ätiologisch identische Erkrankungen sind, vielmehr käme nach Heymann noch die Möglichkeit in Betracht, daß die Chlamydozoen zwar die Erreger einer bestimmten blennorrhoischen Erkrankung sind, daß es sich aber bei den Trachomfällen, in denen Einschlüsse gefunden werden, um Mischinfektionen mit dieser Erkrankung handelt.

Ebenso wie die Einschlußconjunctivitis gelegentlich mit Gonokokken zusammen angetroffen wird, oder auch das Trachom von Gonokokken begleitet wird, wäre derartige Mischinfektion des ätiologisch noch ungeklärten Trachoms mit Einschlüssen möglich.

Flemming, welcher ebenfalls die Übertragbarkeit der Chlamydozoenblennorrhöe auf die Affenconjunctiva bestätigte, faßt gleichfalls die Einschlüsse nicht als die Erreger des Trachoms auf, aber auch nicht als die der sog. Einschlußerkrankungen, sondern sieht in ihnen nur harmlose Schmarotzer, welche alle möglichen Schleimhautkatarrhe begleiten können.

Experimentelle Übertragungen von der Conjunctiva blennorrhöekranker Neugeborener auf die Bindehaut eines Erwachsenen wurden von Wolfrum ausgeführt. Eine Woche nach der Infektion zeigten sich bereits einige Follikel und im weiteren Verlauf entwickelte sich das typische Bild eines echten Trachoms. Auf Grund dieses Ausfalles steht Wolfrum in Übereinstimmung mit Lindner auf dem Standpunkte, daß Trachom und die übrigen Einschlußerkrankungen ätiologisch identisch sind.

Auf einem etwas anderen Wege suchte Flemming (21) die Frage nach der Zusammengehörigkeit der erwähnten Erkrankungen zu lösen, indem er nämlich den klinischen Verlauf verfolgte, welchen verschiedene Affektionen der Conjunctiva nahmen, nachdem Einschlüsse in den Epithelien nachgewiesen worden waren. Flemming wählte dazu Fälle von Blennorrhoea neonatorum ohne bakteriellen Befund, solche mit Pneumokokken und solche mit Gonokokken, ferner Conjunctivitis gonorrhoica des Erwachsenen, Conjunctivitis follicularis und echtes Trachom. In allen diesen Fällen wiesen die klinischen Symptombilder so große Verschiedenheiten voneinander auf, daß Flemming die Möglichkeit einer gemeinsamen Ätiologie danach nicht anerkennen kann. Flemming betont ferner, daß in den Versuchen von Lindner und Wolfrum der Beweis nicht mit Sicherheit erbracht sei, daß durch die Impfungen bei Affen und Mensch wirklich echtes Trachom erzeugt worden sei, weil zur Diagnose des Trachoms die narbige Umwandlung der Conjunctiva sowie die Pannusbildung unerläßlich sei.

Bezüglich der Differenzen im klinischen Bild zwischen der Neugeborenenblennorrhöe und dem Trachom sind die histologischen Untersuchungen Wolfrum's (115) von Wichtigkeit, welcher feststellte, daß die normale Bindehaut des Menschen in den ersten Lebensmonaten kein adenoides Gewebe enthält. Das Ausbleiben der Follikelbildung bei der Neugeborenenblennorrhöe kann also in diesem Mangel seinen Grund haben. Was die klinischen Merkmale betrifft, welche als absolut ausschlaggebend für die Diagnose Trachom anzusehen sind, so sei auf die bereits anfangs erwähnten Meinungsverschiedenheiten hingewiesen, welche über diesen Punkt unter den Ophthalmologen noch bestehen, und die hier natürlich nicht näher erörtert werden können. Es sei aber bemerkt, daß man auf die klinischen Differenzen an sich keinen ausschlaggebenden Wert legen darf. Ich möchte nur daran erinnern, wie eminent verschieden z. B. eine Roseola syphilitica, ein Condyloma latum und ein Gumma aussehen und doch werden alle drei durch dieselbe Spirochäte hervorgerufen. Oder bestehen

zwischen der akuten Urethralgonorrhöe, welche in kurzer Zeit sich ad integrum restituieren kann und der gonorrhoischen Urethritis chronica mit ihren Infiltraten und narbigen Prozessen geringere klinische Unterschiede als zwischen der Einschlußblennorrhoe und dem Trachom?

Über die ätiologische Bedeutung der Chlamydozoen — ihre parisitäre Natur vorausgesetzt — bestehen also zurzeit folgende verschiedene Anschauungen.

1. Die Chlamydozoen beim Trachom und den übrigen Einschlußerkrankungen sind zwar morphologisch identisch, biologisch aber verschieden, so daß die durch sie hervorgerufenen Erkrankungen keine klinische Übereinstimmung zu zeigen brauchen. Diese ursprünglich von Halberstaedter und Prowazek ausgesprochene Vermutung ist von diesen auf Grund der Experimente von Lindner und Wolfrum wieder aufgegeben worden.

2. Die Chlamydozoen sind die Erreger sowohl des Trachoms wie der übrigen Einschlußerkrankungen (Lindner, Wolfrum u. a.).

3. Die Chlamydozoen sind die Erreger bestimmter Einschlußerkrankungen, aber nicht des Trachoms. Wenn beim Trachom Chlamydozoen gefunden werden, so handelt es sich um Mischinfektionen (Heymann).

4. Die Chlamydozoen sind zwar Parasiten, ohne aber in spezifischer Weise pathogen zu sein. Sie können bei allen möglichen desquamierenden Schleimhautkatarrhen vorkommen, sind aber nur als harmlose Schmarotzer aufzufassen (Flemming).

Zum Schluß sei hier noch die Auffassung von Herzog erwähnt, welcher der Ansicht ist, daß die Einschlüsse durch Mutation des Gonococcus entstanden wären. Herzog geht dabei von den bereits mehrfach erwähnten Betrachtungen Stargardt's und Heymann's aus, nach welchen die Einschlüsse bei der Ophthalmoblennorrhöe der Neugeborenen zu finden wären. Um einen etwaigen Zusammenhang zwischen Gonokokken und Chlamydozoen aufzufinden, benutzte Herzog erstens das Studium von Gonokokkenkulturen mit Hilfe der Giemsa'schen Färbung, zweitens die klinische Beobachtung und mikroskopische Untersuchung geeigneter Fälle und endlich drittens den Versuch, experimentell durch Verimpfung von Gonokokken auf die Conjunctiva Epitheleinschlüsse in denselben zu erzeugen, wie sie für Trachom charakteristisch sind. Ein Teil der Herzog'schen Beweisführungen wurde durch Lindner und Halberstaedter angegriffen und es wurde von diesen Autoren darauf hingewiesen, daß weder das morphologische Verhalten der Gonokokken in Kulturen noch Übertragungsversuche mit solchen auf die Affenconjunctiva noch die vielen bisher vorliegenden Untersuchungen an gonorrhoisch und trachomatös erkrankten Schleimhäuten irgendwelche Anhaltspunkte für das Bestehen eines engeren Konnexes zwischen Gonokokken und Chlamydozoen geben, daß vielmehr zwischen diesen beiden Organismen die weitgehendsten morphologischen und biologischen Unterschiede bestehen.

Nachtrag.

Inzwischen wurden von Leber und Prowazek bei der „samoanischen Augenkrankheit" spezifische Epitheleinschlüsse beschrieben, welche große Ähnlichkeit mit den Trachomchlamydozoen haben und von den Autoren als besondere Chlamydozoenorganismen angesprochen werden (siehe den vorhergehenden Abschnitt). Ferner sind sehr bemerkenswert die von Uhlenhuth bei der Schweinepest erhobenen Befunde in den Epithelzellen der erkrankten Conjunctiven, welche die weitgehendsten morphologischen Übereinstimmungen mit den Trachomchlamydozoen zeigen.

Literatur.

1. Addario, Italien. Trachomkongreß. Palermo 1906.
2. Derselbe, Das pathogenetische Element des Trachoms. Arch. für Augenheilkunde. 3. H. Bd. 64.
3. Addario, G., Über das Vorkommen der Prowazek-Halberstaedter'schen Körperchen in normalen Bindehäuten des Menschen und Affen. Arch. für Augenheilkunde. Bd. 67.
4. Bach, Ärztl. Verein zu Marburg 1909.
5. Bajardi, La clinica oculistica 1907.
6. Bartels, Straßburger med. Zeitung 1908. H. 12.
7. Bertarelli und Cecchetto, Beitrag zur Ätiologie des Trachoms. Centralblatt f. Bakter. XLVII. H. 4.
8. Dieselben, Weitere Untersuchungen über die Ätiologie des Trachoms. Centralblatt für Bakteriologie. Bd. 50. Nr. 1.
9. Blaha, Ansteckender Scheidenkatarrh der Rinder. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1909 Nr. 48.
10. Bock, Allg. Wien. med. Ztg. 1889.
11. Brückner, Disc. ophthalm. Ges. Heidelberg 1910.
12. Cazalis, Études bactériologiques dans la conjunctivite granuleuse. Thèse de Montpellier 1896.
13. Cecchetto, Zur Kenntnis der Trachomkörperchen. C. f. Bakt. I. Bd. 51. H. 5. S. 536.
14. Clausen, Wie sind die sog. Trachomkörperchen differentialdiagnostisch zu verwerten? Kl. Jahrbuch 1909. Bd. 21.
    S. auch Frosch und Greeff.
15. Dreyer und Meyerhoff, Über Befunde von Trachomkörperchen in Ägypten. Monbl. f. Augenheilk. 1910 April.
16. Erdmann, Diskuss. auf der Ophthalm. Versammlg. Heidelberg 1908.
17. Fermi und Repetto, Berl. klin. Wochenschr. 1907.
18. Finlay und Cartaya, Sanidaar y Beneficiencia. Mai 1910.
19. Flemming, Über sog. Trachomkörperchen. Berliner Ophthalm. Ges. 20. I. 1910.
20. Derselbe, Untersuchungen über sog. Trachomkörperchen. Arch. f. Augenheilk. LXVI. Heft 1.
21. Derselbe, Klinischer Verlauf desquamierender Katarrhe der Konjunktiva bei Trachomkörperchenbefund. Charité-Annalen 1910.
22. Fraenkel, Diskuss. zum Vortrag von Hippel. Verein d. Ärzte Halle 1910.
23. Fritsch, Hofstaetter und Lindner, Experimentelle Studien zur Trachomfrage. Graefes Archiv 1910.
24. Frosch, Greeff, Clausen, Untersuchung über die Entstehung und Entwicklung des Trachoms. Klin. Jahrbuch 1908. Bd. 19. H. 1.
25. Gallenga, Zur Färbung der Prowazek-Halberstaedter'schen Trachomkörperchen. Monbl. f. Augenheilk. XLVIII Februar. S. 195.
26. Derselbe, Dei corpi del tracoma. Annal di Ottalm. XXXIX F. 1, 2.
27. Derselbe, Della specific. di Chlamydozei des Tracoma. Pavia 1910.
28. Giemsa, Über die Färbung von Schnitten mittels Eosin-Azur. Deutsch. med. Woch. 1910.
29. Derselbe, Zur Färbung von Feuchtpräparaten und Schnitten mit der Azurmethode. Centr. f. Bakt. 1910. Bd. 54.
30. Goldberg, Diagnostische Verwertbarkeit der Trachomkörperchen. Prag. med. Wochenschrift Nr. 23. 1909.
31. Goldzieher, Die Pathologie d. Trachoms. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 41.
32. Greeff, The aetiology of Trachoma. The Ophthalmoskope. Sept. 1909.
33. Greff, Über eigentümliche Doppelkörnchen (Parasiten?) in Trachomzellen. D. M. W. 1907. Nr. 23.
34. Derselbe, Weiteres über unsere Trachombefunde. Ophthalm. Kongreß. 6. August 1908.
35. Derselbe, Die Erreger des Trachoms. D. M. W. 1909. Nr. 12.
36. Derselbe, Meine Trachomkörperchen. Monbl. f. Augenheilk. 1909.

37. Greff, Frosch, Clausen, Untersuchungen über die Entstehung und Entwicklung des Trachoms. Arch. f. Augenheilk 1908. Bd 59. H 2.
38. Grüter, Untersuchungen über die von Prowazek bei Trachom gefundenen Körperchen und ihren diagnostischen Wert. D. M. W. 1909. S. 1950.
39. Gutfreund, Über Trachomkörperchen. Wien. klin. Woch. 1909.
40. Gyeri, Über den Bakteriengehalt der trachomatösen Bindehaut auf Grund von 100 untersuchten Fällen. IV. ung. ophthalm. Ges. Budapest Ref. Z. f. Augenheilk. Sept. 1908.
41. Halberstaedter und Prowazek, Über Zelleinschlüsse parasitärer Natur beim Trachom. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 1907.
42. Dieselben, Zur Ätiologie des Trachoms. D. M. W. 1907. Nr. 32
43. Dieselben, Zu dem Aufsatz: die Erreger des Trachoms von Prof. Greeff. Deutsche Med. W. 1909. Nr. 17.
44. Dieselben, Zur Ätiologie des Trachoms. Berl. Klin. Woch. 1909. Nr. 24.
45. Dieselben, Über Chlamydozoenbefunde bei Blennorrhoea neonatorum non gonorrhoica. Berl. klin. Woch. 1909. Nr. 41.
46. Dieselben, Über die Bedeutung der Chlamydozoen bei Trachom und Blennorrhoe. Berl. klin. Woch. 1910. Nr. 15.
47. Halberstaedter, Entsteht der Trachomerreger. durch Mutation des Gonococcus? Berl. klin. Woch. 1910. Nr. 32.
48. Herford, Beiträge zur Trachomforschung. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. März 1909.
49. Herzog, Über die Ätiologie des Trachoms. Szemeszet ophthalmologia 1909.
50. Derselbe, Darstellung der Trachomkörper im Schnittpräparat. D. M. W. 1909. Nr.53.
51. Derselbe, Über eine neue Methode der Schnellfärbung und der Kontrastfärbung der Trachomkörperchen im Schnittpräparat. Graefes Arch. 1910. Festschrift für Th. Leber.
52. Derselbe, Über die Natur und die Herkunft des Trachomerregers. 1910. Urban und Schwarzenberg, sowie Deutsche Med. Woch. 1910.
53. Hess u. Römer, Übertragungsversuche von Trachom auf Affen. Arch. f. Augenheilk. Bd. 55.
54. Heymann, Über die „Trachomkörperchen“. D. M. W. 1909. Nr. 39.
55. Derselbe, Über die Fundorte der Prowazek'schen Körperchen. Berl. klin. Woch. 1910. Nr. 15.
56. Hippel, Der jetzige Stand der Trachomforschung. Verein d. Ärzte Halle 1910.
57. Jancke, Zelleinschlüsse bei Harnröhrengonorrhoe. Deutsch. Med. W. 1910.
58. Kiribuchi, Med. Ges. Tokyo Ref. D. M. W. 1908.
59. Koch, Bericht über die Tätigkeit der deutschen Cholerakommission in Ägypten u. Sues Wiener Med. Woch. 1883.
60. Kodama, Med. Ges. Tokyo. Ref. Deutsch. Med. Woch. 1908.
61. Kraus, Diskussion z. Vortrag v. Römer in der Tgg. der Fr. Ver. f. Mikrobiologie. Ref. Deutsche Med. Woch. 1908. Nr. 48.
62. Krüdener, Über die Ursachen des Trachoms. Pet. Med. Woch. 1908. Nr. 52.
63. Derselbe, Über Zellparasiten u. Zellveränderungen beim Trachom. Vortrag 21. Mai 1908. Petersburger med. Woch. 1909. Nr. 19.
64. Küsel, Das Trachom in Ostpreußen. Halle a. S. 1910.
65. A. Leber, Untersuchungen zur Ätiologie des Trachoms. Berl. Ophthalm. Ges. 17. Dez. 1908. Ref. Med. Klin. 1909. S. 155.
66. Derselbe, Diskussion zu dem Vortrag v. Halberstaedter und Prowazek. Berl. Med. Ges. 1909.
67. A. Leber u. Hartmann, Untersuchungen zur Ätiologie des Trachoms. Kl. Jahrbuch 1909.
68. Lindner, Übertragungsversuche von gonokokkenfreier Blennorrhoeca neonatorum auf Affen. Wien. klin. Wochenschr. 1909. S. 1565.
69. Derselbe, Sitzungsbericht der Wiener ophthalmol. Ges. 27. Oktober 1909. Z. f. Augenheilkunde.
70. Derselbe, Ges. d. Ärzte Wien. 12. November 1909.

71. Lindner, Die freie Initialform der Prowazek'schen Einschlüsse. Wien. klin. Woch. 1909. S. 1697.
72. Derselbe, Über den jetzigen Stand der Trachomforschung. Wien. klin. Woch. 1909. Nr. 50.
73. Derselbe, Zur Färbung der Prowazek'schen Einschlüsse. Centralbl. f. Bakt. Bd. 55. 1910.
74. Derselbe, Die freie Initialform der Prowazek'schen Einschlüsse. Graefe's Arch. 76 H. J.
75. Derselbe, Über die Natur des Trachomerregers. Bemerkungen zu der Arbeit Herzog's. Deutsche Med. Woch. 1910.
76. Michel, Der Mikroorganismus der sog. ägyptischen Augenentzündung (Trachomcoccus). Arch. f. Augenheilk. XVI. S. 348. 1886.
77. Migajima, Zelleinschlüsse in Trachomkörnern.
78. Mijaschita, Über die sog. Trachomkörperchen. Monatsbl. f. Augenheilk. 1908.
79. Müller, Über die ägyptische Augenentzündung. Arch. f. Augenheilk. XL. S. 13. 1899.
80. Muttermilch, Graefe's Arch. 1910. S. 385. Über die Ätiologie und das Wesen des Trachoms.
81. zur Nedden, Über den Erreger des Trachoms. Vortrag im ärztl. Verein Essen-Ruhr. 26. Oktober 1909. Berl. klin. Woch. 1909. S. 2167.
82. Derselbe, Über die Bedeutung der Trachomkörperchen. Arch. f. Augenheilk. LXV. H. J.
83. Derselbe, Versammlg. der Ophthalm.. Ges. Heidelberg 1910.
84. Pascheff, Über die Chlamydozoen oder Trachomkörperchen und andere eigenartige Körperchen. Epithelzelleinschlüsse.
85. Pfeiffer-Kuhnt, Zeitschr. f. Augenheilk. XIII.
86. Pfeiffer, Diskussion zum Vortrag von Römer. Deutsche Med. Wochen. 1908. Nr. 48.
87. Pick, Über Trachomkörperchenbefunde. Wiss. Verein f. Heilk. in Königsberg. Deutsch. Med. Wochenschr. 1909. S. 24.
88. Prowazek, Chlamydozoa. Arch. f. Protistenk. 1907.
89. Derselbe, Die Chlamydozoen als intrazelluläre symbiotische Krankheitserreger. Erg. der wissensch. Med. 1910.
90. Pusey, Trachoma bodies, possibly the eteologic factor of Trachoma. Journ. of amer. med. assoc. 1909.
91. Radziejewski, Trachomkörperchen im tiefen Gewebsschnitt. W. f. Ther. u. Hyg. d. Aug. 1909.
92. Reis, Die sog. Trachomkörperchen vom Standpunkt der bisherigen Forschungen über die Ätiologie des Trachoms. Wiener klin. Wochenschr. S. 889. 1909.
93. Römer, Tgg. d. fr. Ver. f. Mikrob. Berlin 1908.
94. Di Santo, Darstellung der Trachomkörperchen im Schnitt und in der Tiefe des Gewebes. Arch. f. Augenheilk. Bd. 61. Nr. 4.
95. Derselbe, Untersuchungen über die sog. Trachomkörperchen. Kl. Jahrbuch 1909. Bd. 21.
96. Sattler, Über die Natur des Trachoms. 13. Vers. d. ophthalm. Ges. Heidelberg 1881.
97. Schiele, Über „Trachom" bei Neugeborenen. Woch. f. Ther. u. Hyg. d. Auges 1910.
98. Derselbe, Budapester Kongreß 1909.
99. Schmeichler, L., Über Chlamydozoenbefunde bei nicht gonorrhoischer Blennorrhoe der Neugeborenen. Berl. klin. Woch. 1909. S. 257.
100. Schmidt-Rimpler, Ist der Trachomerreger entdeckt? Münch. med. Woch. 1909.
101. Sergent, Note sur l'histoire pendant un an du trachome dans une agglomeration algérienne Ann. de l'Inst. Pasteur 1909. Bd. 253.
102. Shongolowicz, Zur Frage v. d. Mikroorganismus des Trachoms. Petersb. med. Wochenschrift VII. S. 247. 1890.
103. Stanculescu et Radu, Contribution à l'etiologie des Trachome. Soc. biol. T. 66 1909. Nr. 21. S. 995.
104. Stargardt, Über Epithelzellenveränderungen beim Trachom u. a. Konjunktivalerkrankungen. Graefe's Arch. 1909. S. 525.
105. Derselbe, Über Trachomerreger. Sitzung v. 20. Nov. 1908 d. Straßburger med. Vereins. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1909. S. 153.
106. Derselbe, Über den heutigen Stand der Trachomforschung. Med. Klin. 1910. S. 1433.



Die Figuren auf Tafel IV sind falsch numeriert. Es muß heißen:

Figur	1	statt	6
„	2	„	3
„	3	„	2
„	4	„	1
„	5	„	8
„	6	„	4
„	8	„	9

Die auf der Tafel mit Figur 5 bezeichnete Abbildung gehört zu Seite 178.

Lit. Tacchinardi e Ferrari-Pavia

71. Lindner, Die freie Initialform der Prowazek'schen Einschlüsse. Wien. klin. Woch. 1909. S. 1697.
72. Derselbe, Über den jetzigen Stand der Trachomforschung. Wien. klin. Woch. 1909. Nr. 50.
73. Derselbe, Zur Färbung der Prowazek'schen Einschlüsse. Centralbl. f. Bakt. Bd. 55. 1910.
74. Derselbe, Die freie Initialform der Prowazek'schen Einschlüsse. Graefe's Arch. 76 H. J.
75. Derselbe, Über die Natur des Trachomerregers. Bemerkungen zu der Arbeit Herzog's. Deutsche Med. Woch. 1910.
76. Michel, Der Mikroorganismus der sog. ägyptischen Augenentzündung (Trachomcoccus). Arch. f. Augenheilk. XVI. S. 348. 1886.
77. Migajima, Zelleinschlüsse in Trachomkörnern.
78. Mijaschita, Über die sog. Trachomkörperchen. Monatsbl. f. Augenheilk. 1908.
79. Müller, Über die ägyptische Augenentzündung. Arch. f. Augenheilk. XL. S. 13. 1899.
80. Mutterмilch, Graefe's Arch. 1910. S. 385. Über die Ätiologie und das Wesen des Trachoms.
81. zur Nedden, Über den Erreger des Trachoms. Vortrag im ärztl. Verein Essen-Ruhr. 26. Oktober 1909. Berl. klin. Woch. 1909. S. 2167.
82. Derselbe, Über die Bedeutung der Trachomkörperchen. Arch. f. Augenheilk. LXV. H. J.
83. Derselbe, Versammlg. der Ophthalm.. Ges. Heidelberg 1910.
84. Pascheff, Über die Chlamydozoen oder Trachomkörperchen und andere eigenartige Körperchen. Epithelzelleinschlüsse.
85. Pfeiffer-Kuhnt, Zeitschr. f. Augenheilk. XIII.
86. Pfeiffer, Diskussion zum Vortrag von Römer. Deutsche Med. Wochen. 1908. Nr. 48.
87. Pick, Über Trachomkörperchenbefunde. Wiss. Verein f. Heilk. in Königsberg. Deutsch. Med. Wochenschr. 1909. S. 24.
88. Prowazek, Chlamydozoa. Arch. f. Protistenk. 1907.
89. Derselbe, Die Chlamydozoen als intrazelluläre symbiotische Krankheitserreger. Erg. der wissensch. Med. 1910.
90. Pusey, Trachoma bodies, possibly the eteologic factor of Trachoma. Journ. of amer. med. assoc. 1909.
91. Radziejewski, Trachomkörperchen im tiefen Gewebsschnitt. W. f. Ther. u. Hyg. d. Aug. 1909.
92. Reis, Die sog. Trachomkörperchen vom Standpunkt der bisherigen Forschungen über die Ätiologie des Trachoms. Wiener klin. Wochenschr. S. 889. 1909.
93. Römer, Tgg. d. fr. Ver. f. Mikrob. Berlin 1908.
94. Di Santo, Darstellung der Trachomkörperchen im Schnitt und in der Tiefe des Gewebes. Arch. f. Augenheilk. Bd. 61. Nr. 4.
95. Derselbe, Untersuchungen über die sog. Trachomkörperchen. Kl. Jahrbuch 1909. Bd. 21.
96. Sattler, Über die Natur des Trachoms. 13. Vers. d. ophthalm. Ges. Heidelberg 1881.
97. Schiele, Über „Trachom"
98. Derselbe, Budapester Ko
99. Schmeichler, L., Über der Neugeborenen. B
100. Schmidt-Rimpler, Ist de
101. Sergent, Note sur l'histoi Ann. de l'Inst. Pasteu
102. Shongolowicz, Zur Frag schrift VII. S. 247.
103. Stanculescu et Radu, (Nr. 21. S. 995.
104. Stargardt, Über Epithe krankungen. Graefe's
105. Derselbe, Über Trachomer Ref. Münch. med. Woc
106. Derselbe, Über den heutig

1
b
a

2

3
b
a'

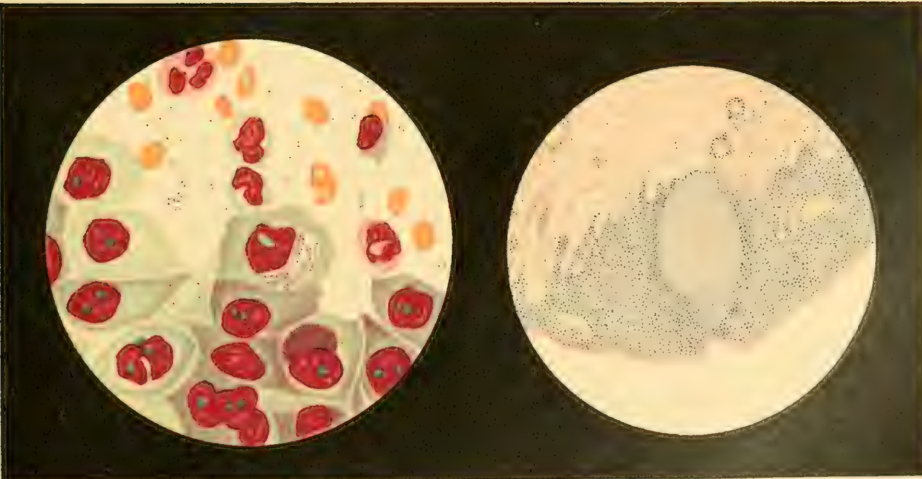
4

5

6
a
c
b

7

8 9



Halberstaedter del. Verlag von Johann Ambrosius Barth, Leipzig Lit. Tacchinardi e Ferrari-Pavia

107. Thierfelder, Beiträge zur Lehre vom Trachom. Aug.-Klin. Petersb. Rostock.
108. Uhthoff, Diskuss. z. 36. Vers. d. Ophthalm. Ges. Heidelberg 1910.
109. Verhoeff, A rapid method of staining the Trachoms bodies of Halberstaedter-Prowazek. Ophthalm. Rec. Okt. 1909.
110. Waldstein, Zur Histologie der Conjunctivitis gonorrh. Arch. f. Ophthalm. Bd. 12. H. 2. 1909.
111. Werner, Beiträge zur Kenntnis des Trachomerregers. Zentralbl. f. Augenheilk. 1909. S. 321.
112. Wolfrum, Trachombefunde im Ausstrich und Schnitt. Kl. Monatsbl. f. Augenheilk. Okt. 1909. S. 411.
113. Derselbe, Demonstr. in der Med. Ges. in Leipzig 13. Juli 1909. Ref. M. med. Woch. 1909.
114. Derselbe, Beiträge zur Trachomforschung. Monatsbl. f. Augenheilk. 1910. Zusatzbericht.
115. Derselbe, Über Einschlußerkrankungen der menschlichen Bindehaut. 36. Vers. d. ophthalm. Ges. Heidelberg 1910.

Tafelerklärung.

Tafel IV.

Fig. 1. Menschliches Trachom. Abstrichpräparat. Giemsa-Färbung. Zeiß. Oc. 8. Hom. Immersion. Initialelemente a, b, c.

„ 2. Ophthalmoblennorrhoe der Neugeborenen, nicht gonorrhoisch. Abstrich, Giemsa-Färbung. Zeiß. Oc. 8. Homog. Immersion. a) Initialelemente. b) Haufenform.

„ 3. Schnittfärbung. Kontrastfärbung von Lindner. Originalabbildung von Lindner. Vergr. 600 fach.

„ 4. Teilungsform eines Elementarkörpers. b) Initialgebilde. Schnittfärbung. Giemsamethode für Schnittpräparate.

„ 5. Originalabbildung von Lindner. Einschlußblennorrhoe. Initialgebilde im Einschluß, zahlreiche freie Exemplare.

„ 6. Älteres Einschlußstadium. Schnittfärbung (Giemsa), in der Mitte der „Restkörper“.

„ 7. Pavian mit gonokokkenfreier Blennorhoea neonatorum geimpft. Unterlid mit typischen Trachomkörnern. 7 Wochen nach der Impfung. Originalabbildung von Lindner.

„ 8. Korn aus der Conjunctiva eines Macacen. 34 Tage nach Infektion mit gonokokkenfreier Blennorrhoea neonatorum. Vergr. 52 fach.

Lyssa.

Von

Priv.-Doz. Dr. **Maresch** (Wien).

Nachdem Pasteur im Jahre 1881 gezeigt hatte, daß das Lyssa-Virus sich im Zentralnervensystem in konzentrierter Form findet, wurde überall, wo entsprechendes Untersuchungsmaterial zur Verfügung stand, mit großem Eifer nach dem Erreger der Hundswut gefahndet. Erfolgreich waren in vielen Punkten die Untersuchungen biologischer Natur, da hierbei den Forschern die Gehirnemulsion von an Wut zugrunde gegangenen Tieren zur Verfügung stand, mit der man wie mit einer Reinkultur des Erregers experimentieren konnte. So hatte Pasteurs grundlegende Entdeckung die Ausbildung einer präventiven Schutzimpfung gegen die Lyssa zur Folge. Weitere Forschungen gaben Aufschluß über das Verhalten des Virus den verschiedenen Tierarten gegenüber, belehrten uns über die Art der Ausbreitung des Virus im Körper, über seine Resistenz gegen schädliche Einflüsse, seine Filtrierbarkeit usw. Dagegen führten die histologischen Untersuchungen, die schon vor Pasteur in Angriff genommen worden waren, lange Zeit zu keinen völlig befriedigenden Resultaten. Man konstatierte zwar das Vorhandensein verschiedener, mehr oder weniger charakteristischer Veränderungen im Bereiche des Nervensystems, doch gelangte die morphologische Forschung trotz jahrelanger Bemühungen nicht an ihr Endziel, die Sichtbarmachung des Erregers der Hundswut. Erst das Jahr 1903 brachte die bedeutungsvollen Untersuchungsergebnisse von A. Negri, welche eine neue Aera in der Lyssa-Forschung inaugurierten. Negris Befunde wurden in der Folge zumeist bestätigt, und wenn auch die Deutung derselben nicht allgemeine Zustimmung gefunden hat, so haben sie doch wesentlich mit dazu beigetragen, daß schon jetzt die Lyssa in der Reihe jener Krankheiten besprochen werden kann, die durch pathogene Protozoen hervorgerufen werden.

Über die Pathogenese der Lyssa, ihren Verlauf und ihre experimentelle Übertragung.

Die natürliche Übertragung der Lyssa, einer primären Infektionskrankheit des Hundes und der verwandten Tierarten (Wolf, Fuchs) erfolgt jedesmal in der Weise, daß der Infektionsstoff mit einer frischen Verletzung in Berührung kommt; am häufigsten geschieht dies durch den Biß eines wutkranken Tieres, seltener dadurch, daß der infektiöse Speichel in eine anderweitig gesetzte frische Wunde gelangt, oder daß sich der Obduzent bei der Eröffnung von Lyssa-Kadavern eine Verletzung zuzieht.

Bei Tieren kann es nach einem zwischen 2 Wochen und mehreren Monaten schwankenden Inkubationsstadium zum Ausbruch der Krankheit kommen. Die Morbidität beträgt nach Hutyra im großen Durchschnitt ca. 30 %, kann speziell bei Rindern und Schafen auch 50—60 % erreichen. Bei jungen Tieren sind diese Zahlen größer. Die Krankheit bietet bei Hunden meist das Bild der sog. rasenden Wut dar, die in 5—8 Tagen zum Tode führt, oder es erliegen die Tiere in einer kürzeren Zeit (2—3 Tagen) der stillen Wut, bei welcher der dem melancholischen Anfangsstadium sonst folgende Zustand der Exzitation nur sehr kurz ist oder gänzlich fehlt, und sich rasch die dem Tode vorangehenden Lähmungserscheinungen entwickeln.

Bei Menschen kommt die Lyssaerkrankung ohne rechtzeitige Schutzimpfung im allgemeinen nur in höchstens 10—15 % der Gebissenen oder Infizierten zum Ausbruch. Die Inkubationszeit beträgt in der Regel 1—3 Monate. Die Krankheit beginnt mit einem kurzen Prodromalstadium (Schmerz an der Infektionsstelle, eine etwa vorhandene Narbe rötet sich bisweilen, Fieber, Änderungen der Psyche) und führt bald zu rasch sich steigernder reflektorischer Übererregbarkeit. Schon ein leichtes Anblasen des Patienten ruft ein heftiges Zusammenzucken, ja selbst Krampfanfälle hervor (Aërophobie), und durch Krämpfe der Schlundmuskulatur bedingte Schlingbeschwerden (Hydrophobie) stellen ein nie fehlendes Symptom dar. Nach verschieden langer Dauer geht dieser Erregungszustand in Lähmung über. 3—6 Tage nach dem Ausbruch der ersten Erscheinungen endigt die Krankheit letal.

Sichere Fälle von Heilung ausgebrochener Lyssa beim Menschen sind nicht bekannt. Bei Hunden wird nur bei experimenteller Lyssa von Heilungen berichtet, und nach Högyes sollen von 159 wütend gemachten Hunden 6 genesen sein. Doch hat Marie bei mehr als hundert subdural infizierten Hunden keinen Fall von Heilung gesehen.

Die sicherste Art der Übertragung der Wut auf Versuchstiere ist die subdurale oder intracerebrale Verimpfung, wobei eine geringe Menge des virulenten Materials (einige Tropfen einer Aufschwemmung von Hirnsubstanz in physiologischer Kochsalzlösung) nach ausgeführter Trepanation injiziert wird. (Ist das zu verimpfende Material schon in Fäulnis übergegangen, empfiehlt es sich, dieses mit 1 %iger Karbolsäurelösung zu versetzen und erst nach 12—24 Stunden zu injizieren.) Auch die intraokuläre Impfung in die vordere Augenkammer (Gibier) gibt allerdings nur bei Straßenvirus sichere Resultate, ebenso die Injektion durch die Membrana obturatoria (Högyes) oder die intravertebrale Injektion (Lebell). Dasselbe gilt von der etwas umständlicheren Infektion von den großen Nervenstämmen aus (Vestea und Zagari) und von der leicht durchzuführenden intramuskulären Injektion, die am zweckmäßigsten an der Nacken- oder Rückenmuskulatur vorgenommen wird, sowie von der kornealen Infektion nach Kraus und Fukuhara.

Inkonstante Resultate erhält man nach Applikation des virulenten Materials auf die skarifizierte (auch nur rasierte) Haut oder nach subkutaner Injektion, die besonders bei Hunden wegen des reichlichen subkutanen Fettgewebes nur selten, öfter bei Kaninchen und Mäusen den Ausbruch der Wut zur Folge hat. Eine wirksame Übertragung von den Schleimhäuten aus (Conjunctiva, Nasenschleimhaut, Darmtrakt) findet nur in einem geringen Prozentsatz statt. Intravenöse Einverleibung des Giftes und die Injektion desselben in die Peritonealhöhle hat nur selten und auch nur dann einen Erfolg, wenn große Mengen injiziert worden sind. Manche Tiere, wie Schafe und Pferde, reagieren in der Regel auf intravenöse Injektionen nicht.

Kaninchen erkranken nach Infektion mit Straßenvirus nach 2—3 Wochen (kleinere Tiere etwas früher als größere), meist unter dem Bilde der paralytischen Wut, die mit leichter Steigerung der Temperatur und der Respirationsfrequenz, Verweigerung der Nahrungsaufnahme beginnt, zu immer mehr sich ausbildender Ataxie (Zittern des

Kopfes) und endlich zu allgemeinen schlaffen Lähmungen führt. Der Tod tritt nach 4—5 Tagen ein, in der warmen Jahreszeit etwas später als im Winter. Seltener kommt es bei diesen Tieren zu Erscheinungen der rasenden Wut. Ein wichtiges Symptom der Lyssa ist die zuerst von Nocard konstatierte Glykosurie. Sie findet sich regelmäßig bei Pflanzenfressern (an Kaninchen von Arloing und Pélissier studiert), stellt aber auch bei Karnivoren einen häufigen Befund dar (Rabieaux und Nicolas).

Passiert das Wutgift eine größere Reihe von Kaninchen, so kommt es, wie Pasteur gezeigt hat, allmählich zu einer Verkürzung der Inkubationsdauer, bis schließlich dieselbe, etwa nach der 50. Passage, nur mehr 6—7 Tage beträgt und von da ab keine weitere Veränderung erkennen läßt. Dieses Virus wird Virus fixe genannt.

Rascher gelangt man nach Högyes zu diesem Resultat, wenn man zu den Passagen junge Kaninchen benutzt. Hunde, die mit dem Virus fixe infiziert werden, erkranken früher als nach der Infektion mit Straßenvirus, und wird von diesen wieder auf Kaninchen weitergeimpft, tritt bei denselben die Krankheit wieder in 6—7 Tagen auf. Fermi besitzt ein Virus fixe, welches, Mäusen subkutan injiziert, die Krankheit in 5—6 Tagen zum Ausbruch bringt. Es erzeugt auch an weiße Mäuse verfüttert Lyssa in ca. 50% (Cano). Bei Passage des Straßenvirus durch Hunde soll dasselbe eine deutliche Abschwächung insofern erfahren, als es nach der 6. bis 10. Passage nur mehr die paralytische Form der Wut erzeugt, und nach weiteren Passagen die Tiere unter starker Abmagerung zugrunde gehen (konsumptive Form der Lyssa). Das Gehirn dieser Tiere ist für Kaninchen nicht mehr pathogen. Auch bei der Passage des Straßenvirus durch Affen nimmt die Virulenz ab, und zwar noch viel rascher, so daß es schon nach 3 Passagen seine Infektiosität für Kaninchen verloren hat. Affen sind für die subkutane, intramuskuläre und intraokuläre Injektion von Virus fixe unempfindlich, ebenso der Mensch, bei welchem offenbar dieses Virus leichter den natürlichen Schutzkräften erliegt als das Straßenvirus.

Wie das Kaninchen sind auch alle übrigen kleinen Laboratoriumstiere für die Lyssa empfänglich, Mäuse, Meerschweinchen und bunte Ratten erkranken in der Regel unter dem Bilde der rasenden Wut.

Vögel sind teils empfänglich, wie z. B. Hühner, junge Tauben, Gänse, Enten, teils verhalten sie sich refraktär, wie Falken, Raben, alte Tauben. Bei Vögeln dauert die Krankheit, welche sich in Ataxie, Paresen und vollständigen Lähmungen äußert, in der Regel sehr lange, endet erst nach 10—14 Tagen letal, geht aber auch mitunter in Spontanheilung aus. Passage des Virus fixe durch Hühner schwächt die Virulenz sehr ab und bringt sie endlich vollständig zum Verschwinden (Kraus, Keller und Clairmont, Loete, Marie).

Versuche, die Lyssa auf Reptilien und Amphibien zu übertragen, sind meist negativ ausgefallen. v. Loete berichtet über gelungene Übertragung auf Frösche.

Über die Verbreitung und den Sitz des Virus im Organismus.

Bei der natürlichen Infektion pflanzt sich das Virus längs der Nerven zum Zentralnervensystem fort. Die Wahrscheinlichkeit, daß eine wirksame Infektion erfolgt, ist um so größer, je mehr die Lage und Beschaffenheit der gesetzten Wunde eine ausgiebige Berührung bloßgelegter Nerven mit dem infektiösen Medium ermöglicht. Grundlegende Untersuchungen über diesen Gegenstand haben Babes und gleichzeitig auch Vestea und Zagari angestellt. Sie konnten nach der Injektion des Virus in einen Nervenstamm das Zustandekommen der Lyssa dadurch verhindern, daß sie einige Stunden nach der Infektion denselben oberhalb der Injektionsstelle resezierten. Erfolgt die Infektion am Stamm des N. ischiadicus, so erweist sich das Rückenmark

im Bereiche des Lendenabschnitts früher virulent als in den oberen Abschnitten, und ein entgegengesetztes Verhalten stellt sich ein, wenn die Injektion an den Nerven der oberen Extremität erfolgt. SCHAFFER konnte auch an den der Infektionsstelle zunächst gelegenen Partien des Nervensystems stets das Auftreten der ersten histologischen Veränderungen konstatieren. Die wirksame Verbreitung des Virus auf dem Wege der Lymph- und Blutbahn spielt eine untergeordnete Rolle und kommt gewiß gegenüber der Bedeutung, welche die Verbreitung längs der Nervenbahnen besitzt, nicht in Betracht.

Über den Sitz des Virus im Zentralnervensystem selbst geben von neueren Untersuchungen die Experimente von NITSCH und von CLAUDIO FERMI Aufschluß. Nach NITSCH ist im allgemeinen die graue Substanz virulenter als die weiße, ferner ist die Hirnrinde virushaltiger als das Ammonshorn und das Corpus quadrigeminum, weniger virulent sind die Riechlappen, die Stammganglien und die Gehirnnerven. Das verlängerte Mark ist wieder weniger virushaltig als das Rindengrau und das Ammonshorn (NITSCH und D'AMATO), es ist aber deutlich virulenter als das Rückenmark.

Nicht wesentlich abweichend von diesen Feststellungen sind die Befunde FERMIS, welcher nach der Verimpfung seines fixen Virus auf Mäuse fand, daß sich dasselbe am konzentriertesten nachweisen ließ im Ammonshorn, Kleinhirn und verlängerten Mark, daß ferner der Reihe nach sich als immer weniger virulent erwiesen: die Substanz des Dorsalmarks, des Kleinhirns, des Lendenmarks, der Hinterhauptslappen, des Schwanzkerns, und endlich zeigte sich die weiße Hirnsubstanz als relativ am wenigsten virushaltig.

Ist das Virus im Gehirn angelangt, so verbreitet es sich von da aus längs der Nerven wieder nach der Peripherie, so daß besonders bei langsam verlaufenden Fällen auch die peripheren Nerven virulent sein können (ROUX). Auf diese Weise gelangt das Virus auch in die Speicheldrüsen, was man experimentell dadurch feststellen konnte, daß nach Resektion der Speicheldrüsen-Nerven Drüsengewebe sowohl wie Speichel sich als avirulent erweisen (BERTARELLI). Die Speicheldrüsen sind durchaus nicht immer, jedoch in den meisten Fällen virulent (BARDACH, BORDONI, BERTARELLI und VOLPINO, REMLINGER, POOR), welcher Umstand gewiß auch dazu beiträgt, daß nicht jedesmal ein Biß von einem wutkranken Tiere eine Infektion zur Folge hat. Doch hat in neuerer Zeit GANSLMEYER bei Überimpfungen von Submaxillaris-Emulsion in einem hohen Prozentsatz Lyssa erzeugen können. Die gelegentliche Avirulenz der Speicheldrüsen scheint mit der Länge der Inkubation und der Dauer der Krankheit zusammenzuhängen, da das Virus erst nach einer gewissen Zeit längs der Nerven die Drüsen erreichen kann. Doch kann es geschehen, daß der Speichel 1—3 Tage (ROUX und NOCARD) ja selbst 8—10 Tage vor Ausbruch der ersten Krankheitssymptome virulent wird, was für die Beurteilung der etwa in diesem Zeitraum erfolgten Bißverletzungen von Wichtigkeit ist. In ähnlicher Weise wie bei den Speicheldrüsen wandert das Virus gelegentlich auch zur Tränendrüse, zum Pankreas und vielleicht auch zu den Drüsen des Bronchialtraktes. Ferner ist die Virulenz ein ganz inkonstanter Befund bei der Prüfung der Milch (BARDACH, NOCARD, REPETTO), des Harns, des Hodensekrets (BOUCHARD), sowie des Glaskörpers (HÖGYES), des Kammerwassers (COURMONT und NICOLAS) und der Lymphe (GALTIER, ROUX). Bei den Nebennieren (BOMBICI) ist der Virusgehalt offenbar an die nervöse Marksubstanz derselben gebunden und bei der Muskulatur an die in derselben verteilten Nervenstämme.

An der Bißstelle fand PACE in der Hautnarbe das Virus, dagegen BERTARELLI und VOLPINO nicht. Mit der Cerebrospinalflüssigkeit haben PASTEUR, HÖGYES und C. FRANÇA positive, WYSSOKOWITSCH, LESIEUR und REPETTO negative Resultate erzielt. Das Blut ist meist avirulent, jedoch gelang es A. MARIE in einer größeren Untersuchungsreihe dreimal, das Virus im Blute nachzuweisen. Von einem Über-

treten des Tollwutvirus vom tierischen mütterlichen Organismus auf den Fötus berichten Perroncito und Carita, Loir, Konradi. Krokiewicz hat bei Menschen, Repetto beim Schaf diesen Befund nicht erheben können.

Als stets avirulent werden bezeichnet: Leber, Milz und Retina.

Über die anatomischen und histologischen Veränderungen.

Der Obduktionsbefund bei an Lyssa zugrunde gegangenen Menschen und Tieren bietet nur geringfügige, nicht charakteristische Veränderungen.

Beim Menschen findet sich zumeist eine sehr hochgradige, seltener eine nur wenig ausgesprochene Hyperämie des Gehirns und der Meningen, verbunden mit spärlichen punktförmigen Blutaustritten. Andere Befunde, wie z. B. gelegentlich Bronchitiden und broncho-pneumonische Herde, Ecchymosen am Brustfell und Herzbeutel, Zeichen parenchymatöser Degeneration der Organe, stellen sekundäre Veränderungen dar.

Die Tierärzte werden durch den Befund dickflüssigen, teerartigen Blutes und eines blutreichen Gehirns, sowie durch die Anwesenheit von unverdaulichen Gegenständen im Magen (Steine, Holzstücke usw.) und durch den, übrigens nicht konstanten, Befund hyperämischer Speicheldrüsen im Zusammenhalt mit den etwa während des Lebens beobachteten Erscheinungen zur Annahme einer Lyssa-Erkrankung geführt. Nach Galtier kommen aber Fremdkörper im Magen nur etwa in 50 % der Fälle vor und finden sich überdies auch ab und zu bei nicht der Wut erlegenen Hunden.

Bei der histologischen Untersuchung des Zentralnervensystems stellen die Veränderungen am Gefäßapparat den auffallendsten Befund dar, auf den schon die ersten Untersucher hingewiesen haben. Die Gefäße sind mit roten Blutkörperchen meist prall erfüllt, enthalten stellenweise hyaline Massen (Schaffer, Kolesnikoff, Balzer, Benedikt), erweitern sich gelegentlich nach Benedikt zu miliaren Aneurysmen und führen wohl auch ohne diese Veränderung zu dem oft schon mit freiem Auge wahrnehmbaren kleinen Blutungen, die sich vorwiegend in der grauen Substanz, so in den Hörnern des Rückenmarks (Schaffer), wie auch am Boden der Rautengrube und in der Nachbarschaft des Zentralkanals (Babes) nachweisen lassen. Paviot und Lesieur sahen durch polynukleäre Leukocyten bedingte Verstopfungen von Kapillaren („kapillare Embolien").

Besonders hervorzuheben sind perivaskuläre Infiltrate. Sie setzen sich vorwiegend aus mononukleären Zellen zusammen, die nicht nur die perivaskulären Lymphräume erfüllen, sondern auch auf die benachbarte Hirnsubstanz übergreifen können. Sie erreichen, wie Kraus und Clairmont gezeigt haben, bei Vögeln, bei welchen der Krankheitsverlauf ein sehr protrahierter ist, eine umfängliche Ausdehnung. Dabei vermehren sich auch die zelligen Elemente der Adventitia, und die Endothelzellen können, sich vergrößernd, in das Gefäßlumen vorspringen und proliferieren (Golgi).

Die ersten systematisch an einem größeren Material durchgeführten histologischen Untersuchungen stammen von Schaffer. Abgesehen von den Veränderungen an den Blutgefäßen beschrieb er ausführlich degenerative Veränderungen an den Nervenzellen: körnigen Zerfall und Vakuolisation des Protoplasmas, mangelhafte Färbbarkeit des Kernes, auch Atrophie von Zelleib und Kern. Er fand diese Veränderungen beim Menschen deutlicher ausgesprochen als bei experimenteller Kaninchen-Lyssa. Zu gleichen Resultaten gelangten Gianturco und Orlowski. Auch Babes sah die gleichen degenerativen Prozesse, konnte aber nicht die von Schaffer aufgefundene, bereits oben erwähnte Beziehung zwischen Infektionsstelle und der ersten Lokalisation der Veränderungen im Zentralnervensystem feststellen. Babes legte auf Grund seiner Untersuchungen ein besonderes Gewicht auf pericelluläre Infiltrate.

Sie sind, da sie sich im Laufe der Krankheit meist allmählich vergrößern, am stärksten ausgebildet bei Hunden, die der Lyssa erlegen sind, und setzen sich vorwiegend aus Lymphocyten und nur sehr spärlichen polynukleären Leukocyten zusammen. Diese Zellen umschließen die mehr oder weniger stark degenerierten Ganglienzellen und dringen wohl auch in das Protoplasma derselben ein. Da Babes bei verschiedenen anderen Erkrankungen, besonders bei Tetanus und bei der puerperalen Eklampsie zwar ähnliche degenerative Veränderungen wie bei der Lyssa fand, jedoch die eben beschriebenen pericellulären Infiltrate hierbei nicht hat nachweisen können, legte er diesen „Wutknötchen" eine besondere diagnostische Bedeutung bei, und zwar in dem Sinne, daß ihr Vorhandensein bestimmt für die Annahme einer Wuterkrankung spricht, während ihr Fehlen dieselbe nur mit Wahrscheinlichkeit ausschließt. In der Folge wurden diese Befunde namentlich von italienischen Autoren bestätigt (Daddi, França u. a.).

Golgi fand Zellteilungsbilder an Glia und Ependymzellen, kariolytische Veränderungen an den Ganglienzellen und zu Beginn der ersten Krankheitserscheinungen Kernteilungs-Figuren im Kleinhirn. In vorgeschrittenen Fällen konnte Golgi auch zu völligem Zerfall führende Fettdegeneration der Ganglienzellen konstatieren.

Das Verhalten der Nissl'schen Granula studierte Nagy und fand, daß sie sehr frühzeitig, infolge feingranulärer und scholliger Auflösung und Auffaserung undeutlich werdend, allmählich völlig verschwinden.

Endlich hat auch Ramon y Cajal im Verein mit Dalmacco Garcia feststellen können, daß zuerst die oberflächlichen Netze der Neurofibrillen sich verbreitern und sich intensiv mit Silber imprägnieren. Später verändern sich auch die übrigen Fibrillen in gleicher Weise. Diese als Hypertrophie bezeichnete Veränderung der Neurofibrillen wird als eine Reaktionserscheinung der Nervenzellen aufgefaßt und, weil spezifisch, als diagnostisch wichtig bezeichnet.

An den Nervenfasern der weißen Substanz des Zentralnervensystems sind nennenswerte spezifische Veränderungen nicht nachzuweisen. Es ist nur gelegentlich Ödem und Myelinzerfall beschrieben worden.

Nach alledem handelt es sich bei der Lyssa um einen über das ganze Zentralnervensystem ausgebreiteten degenerativ entzündlichen Prozeß, welchen Schaffer als akute Myelitis, Golgi als Encephalomyelitis parenchymatosa bezeichneten. Er setzt schon im Inkubationsstadium mit degenerativen Veränderungen an den Nervenzellen ein, denen erst später die reaktiven Erscheinungen am Gefäß- und Stützapparat folgen.

Ähnliches geht auch in den Ganglienzellen der Spinal- und Hirnnerven sowie in den Ganglien des Sympathicus vor sich. An den Intervertebralganglien fand schon Golgi 1894 deutlich erweiterte Blutgefäße, entzündliche Infiltrate, und in den Nervenzellen teils Vakuolenbildung, teils körnigen Zerfall. Auch wurden besonders nach Gesichtsbissen deutlich ausgeprägte Schädigungen der Gasser'schen Ganglien konstatiert.

Besonderes Interesse erweckten die von van Gehuchten und Nellis im Jahre 1900 beschriebenen Veränderungen, die als für die Lyssa spezifisch bezeichnet worden sind. Sie bestehen in einer Vermehrung der die Ganglienzellen umschließenden zelligen Elemente, unter gleichzeitiger, bis zu völligem Schwund führender Degeneration der Nervenzellen. Die Zahl der letzteren ist hochgradig reduziert, sie können wohl auch fast vollständig fehlen, und es findet sich dann an Stelle der Ganglienzelle je ein mehr oder weniger scharf umgrenztes Knötchen, das aus den gewucherten Elementen der Nervenzellhülle besteht. Nach van Gehuchten und Nellis sind diese Nodules rabiques beim Hund am vollkommensten entwickelt, weniger beim Menschen, sind beim Kaninchen nur angedeutet und erreichen überhaupt in den Ganglien der

Hirnnerven und besonders des Vagus eine viel stärkere Ausbildung als in den Spinalganglien. Es wurde ihnen eine hohe diagnostische Bedeutung zugeschrieben, doch kann, wie weitere Untersuchungen lehrten (NOCARD u. a.) aus ihrem Fehlen nicht geschlossen werden, daß Lyssa nicht vorliegt, ebenso wie der gleiche Schluß aus dem Fehlen der pericellulären Infiltrate BABES' nicht gezogen werden kann.

Aber auch ein positiver Befund ist nur mit Vorsicht diagnostisch zu verwerten, da VAN GEHUCHTEN's Knötchen auch bei normalen alten Hunden beschrieben worden sind (MANOUELIAN) und sich wiederholt ähnliche oder gleiche Bilder bei den verschiedensten Krankheiten haben auffinden lassen, und zwar bei Prozessen, durch welche das Nervensystem mittelbar oder unmittelbar geschädigt erscheint (Tabes, LANDRY'sche Paralyse, Diphtherie, Polyneuritis, Typhus, Lues, Tetanus, Fleischvergiftung).

Mit RAMON Y CAJAL Silberimprägnationsmethode kann man in den Nervenzellen der Ganglien ebenso wie in denen des Zentralnervensystems eine Verdickung (Hyperplasie) der Neurofibrillen feststellen. In den Maschen der Fibrillennetze befinden sich die eingedrungenen Phagocyten. In vorgeschrittenen Fällen kann man infolge des granulären Zerfalls der Fibrillen keine Imprägnation erzielen (RAMON Y CAJAL, FRANÇA).

Vor der Besprechung weiterer an den Ganglienzellen erkennbarer Einzelheiten, die mit den Erscheinungsformen des Parasiten der Lyssa in Beziehung gebracht werden, sollen hier noch einige andere mikroskopische Befunde, soweit sie sich bei der Wut haben erheben lassen, kurz erwähnt werden.

In Sediment der Cerebrospinalflüssigkeit finden sich polynukleäre Leukocyten, und das Blut läßt konstant bei Menschen sowie bei Hunden eine deutliche Vermehrung der neutrophil granulierten polynukleären weißen Blutkörperchen erkennen (COURMONT und LESIEUR, NICOLAS), Einen weiteren konstanten Befund stellen entzündliche Herde in den Speicheldrüsen dar. Sie sind vorwiegend in den Submaxillardrüsen, weniger in den Parotiden, nur spärlich im Pankreas nachweisbar und haben ihren Sitz an den Ausführungsgängen kleineren Kalibers und an kleinen venösen Gefäßen (JONESCU, GANSLMAYER). Die Nieren zeigen nebst trüber Schwellung sogenannte kleinzellige Infiltrate in der Umgebung der Glomeruli und der Blutgefäße der Nierenrinde (RUDNEFF, JONESCU), und in den Hoden konnte JONESCU bei rasender Wut eine gesteigerte Spermatogenese, bei der paralytischen Form Degenerationen und entzündliche Herde konstatieren.

Die im Vorhergehenden angeführten histologischen Befunde am Nervensystem weisen darauf hin, daß unter dem Einflusse des Lyssa-Erregers ganz besonders die Nervenzellen eine schwere Schädigung erfahren. Zur Diagnosestellung auf Grund des mikroskopischen Bildes allein genügen sie nicht. Es kämen hierfür in erster Linie die von BABES und VAN GEHUCHTEN beschriebenen Knötchen in Betracht, allein da diese teils nicht spezifisch sind, teils nicht jedesmal in gleich deutlicher Ausbildung sich nachweisen lassen, mußte man in jedem Falle die Verimpfung von Hirnsubstanz auf Versuchstiere vornehmen, um eine strikte Diagnose zu stellen. Erst die Kenntnis der NEGRIschen Einschlüsse ermöglichte es, die Diagnose Lyssa in fast allen Fällen auf mikroskopischem Wege zu stellen.

Über die Negri'schen Körper.

NEGRI veröffentlichte seine überraschenden Befunde im Jahre 1903. Überraschend mußte die Mitteilung NEGRI's deshalb wirken, weil die von ihm beschriebenen spezifischen Zelleinschlüsse durchaus nicht klein und unscheinbar sind und doch jahrelanger intensiver Forschung entgangen waren.[1]) Der Grund hierfür mag zum Teil darin liegen,

[1]) BABES erwähnte bei Besprechung der histologischen Läsionen der Nervenzellen u. a. auch hyaline metachromatische Körper, und NELLIS beschrieb als Centrosomen mit

daß diese Gebilde sich gehäuft zumeist im Ammonshorn finden — einer Stelle des Zentralnervensystems, die wohl selten einer genauen histologischen Prüfung unterzogen worden war, zum Teil auch darin, daß frühere Untersucher ihre Ausdauer an Passagegehirnen erschöpften, in welchen die Negri'schen Körper spärlich und klein sind. Überdies können die Einschlüsse erst durch bestimmte Färbemethoden deutlich gemacht werden.

Negri gab die erste Beschreibung vorwiegend auf Grund von nach Mann gefärbten Präparaten, in welchen die Zelleinschlüsse in besonders augenfälliger Weise in Erscheinung treten. Sie stellen da leuchtend rotgefärbte, scharf konturierte, rundliche oder ovale Gebilde dar, welche im Protoplasma, nie im Kern der Ganglienzelle ihren Sitz haben. Auch in den Zellfortsätzen können sie nachgewiesen werden und erwecken hier an dünnen Schnitten leicht den Anschein einer extracellulären Lagerung. Meist sind die im Zelleib selbst liegenden Körper rundlich, während die in den Ausläufern befindlichen ovale und langgestreckte Formen besitzen. (Ihre charakteristischen Strukturdetails werden später im Zusammenhang mit der Frage nach der Bedeutung dieser Zelleinschlüsse besprochen.) Ihre Größe schwankt zwischen 1 und 27 μ. Negri bezeichnet als kleinere Formen solche von 1—5 μ, als mittlere solche von 10—15 μ, während die großen in der Regel oval sind, einen Längsdurchmesser von 22—23 μ und einen Querdurchmesser von 6,5 μ haben können. Die Masse der größten Formen betrugen 27 : 5 μ. Nicht selten können, da oft eine Zelle selbst 6 und mehr Einschlüsse enthalten kann, Körperchen der verschiedensten Größen in einer einzigen Zelle vorhanden sein. Doch hängt im allgemeinen die Größe von verschiedenen Momenten ab. So spielt der Fundort eine Rolle, indem die Ganglienzellen des Ammonshorns und der Hirnrinde durchschnittlich die großen Exemplare aufweisen, während vorwiegend mittlere und kleinere sich in den Purkinje'schen Zellen, den Zellen des Pons, der Medulla oblongata und spinalis, sowie der Spinalganglien befinden. Auch von der Tierart hängt ihre Größe ab, indem in der Regel die größeren Einschlüsse bei Hunden beobachtet werden, solche mittlerer Größe und kleine Formen bei Kaninchen wie bei anderen kleineren Versuchstieren, während die größten Formen nach Negri's späteren Mitteilungen sich regelmäßig bei Rindern vorfinden. Bei Menschen trifft man gewöhnlich mittelgroße Körper an. Auch führt das Straßenvirus zur Bildung größerer Zelleinschlüsse als das Virus fixe. Bei letzterer Infektion findet man nur sehr spärliche und kleine Negri'sche Körperchen, die, färberisch schwer darstellbar, der Beobachtung leicht entgehen. Schiffmann verfolgte in einer größeren Untersuchungsreihe eine allmähliche Abnahme der Größe und der Zahl der Körper bei fortgesetzter Kaninchenpassage des Straßenvirus und konnte nach der 40.—45. Übertragung die Negri'schen Körperchen nicht mehr nachweisen. Es hängt diese Reduktion der Zahl und Größe mit der Abnahme der Krankheitsdauer zusammen. Schon Negri hatte darauf hingewiesen, daß im allgemeinen zum deutlichen Hervortreten der Einschlüsse eine mindestens ungefähr 2wöchentliche Dauer der Krankheit erforderlich ist (wobei dieselben in ihren kleinsten Formen schon kurz vor Ausbruch der ersten Symptome sichtbar werden), konnte aber dieselben auch bei Virus fixe nachweisen. Dieser Nachweis gelang in der Folge auch anderen Forschern, und Lentz verzeichnet bei Virus fixe einen positiven Befund in etwa 50 %.

Was nun die Reichhaltigkeit des Gewebes an Negri'schen Körpern nach natürlicher und künstlicher Infektion mit Straßenvirus betrifft, so ist dieselbe an den verschiedenen Stellen des Zentralnervensystems eine verschiedene. Am zahlreichsten sind

---

Saffranin darstellbare Körperchen. Möglicherweise handelt es sich in beiden Fällen um die später durch Negri zu so großer Bedeutung gelangten Einschlüsse. — Die früher von Di Vestea im *N. ischiadicus* und im Rückenmark beobachteten Körperchen, in welchen er Protozoen vermutete, haben (nach Negri) mit den Zelleinschlüssen Negri's nichts gemein.

sie in der Ganglienzellenschicht des Ammonshorns nachweisbar und hier wieder nach Bohne besonders an jener Stelle, an welcher die Reihe der Pyramidenzellen des Ammonshorns sich mit jener der Fimbrie vereinigt. Weniger zahlreich sind sie in den Zellen der Hirnrinde, den Purkinje'schen Zellen des Kleinhirns vertreten, spärlicher trifft man sie in den Brückenkernen und im verlängerten Marke an, während sie in den Ganglienzellen des Rückenmarks in der Regel erst nach aufmerksamer Durchmusterung mehrerer Schnitte nachgewiesen werden können. In den Ganglien der Hirnnerven (Ganglion Gasseri und Vagusknoten), sowie in den Spinalganglien sind die Negri'schen Körper in verschiedener Reichhaltigkeit nachgewiesen worden. Sie dürfen hier nicht mit eosinophilen, nicht spezifischen Granulis verwechselt werden (Pace).

Die Verteilung der Negrischen Körper scheint aber auch gelegentlich vom Modus der Infektion abzuhängen. Die eben erwähnte Verteilungsart findet sich zumeist bei natürlicher Infektion und konstant nach intrakranieller und intraokulärer Verimpfung des Virus. Dagegen fand Negri bei einer Anzahl von Kaninchen nach Einimpfung des Virus in den N. ischiadicus die Einschlüsse gehäuft im Rückenmark und in den Spinalganglien, während sie vom Bulbus an sich nur sehr spärlich haben nachweisen lassen. Dieser Befund ist aber inkonstant. Oft ist auch bei dieser Art der Einverleibung des Virus die Verteilung der Negri'schen Körper dieselbe wie nach der intrakraniellen Infektion. Diese Befunde sind in Analogie zu setzen mit den Beobachtungen von Schaffer und Nagy, die, wie bereits erwähnt, eine Beziehung zwischen Infektionsstelle und dem ersten Auftreten histologischer Läsionen haben konstatieren können, was aber auch nicht in jedem Falle deutlich zutage tritt (Babes).

Außer im Zentralnervensystem und den Spinalganglien sind Negri'sche Körper nur noch in der Marksubstanz der Nebennieren von da Costa aufgefunden worden, während sie Moschini in den Nebennieren nicht nachweisen konnte; sie fehlen in den peripheren Nerven und in den Speicheldrüsen, auch im Speichel selbst kommen sie nicht vor (Ganslmayer, Podwyssotzky).

Von hohem praktischen Wert ist die Tatsache, daß die Negri'schen Körper für die Lyssa s p e z i f i s c h sind. Es ist wohl von mehreren Autoren auch in Fällen, in welchen Lyssa nicht vorlag, auf das Vorkommen ähnlicher Gebilde hingewiesen worden (Poor, Luzzani, Pace, Babes). Doch beeinträchtigen diese Beobachtungen durchaus nicht den hohen diagnostischen Wert der Negri'schen Körper; sie mahnen nur zur selbstverständlichen Vorsicht bei der Beurteilung ähnlicher Gebilde. Bei Beachtung der später zu besprechenden Innenstrukturen der Negri'schen Körper ist eine Verwechslung derselben mit nicht spezifischen intracellulären Bildungen und damit eine Fehldiagnose wohl ausgeschlossen. Aus den einschlägigen Mitteilungen geht hervor, daß in den Fällen, in welchen sich Negri'sche Körper haben nachweisen lassen, die experimentelle Virulenzprüfung stets ein positives Resultat ergibt. Doch hat schon Negri unter seinen Beobachtungen 2 zu verzeichnen, in welchen trotz positiven Tierversuchs die Zelleinschlüsse nicht aufgefunden werden konnten, und in der Folge berichtete eine Reihe von Autoren über ab und zu beobachtetes Fehlen der Negri'schen Körper bei zweifelloser Lyssa. Solche negative Ergebnisse der histologischen Untersuchung können, abgesehen von technischen Schwierigkeiten, zum Teil wohl darauf zurückgeführt werden, daß, wie oben erwähnt, in seltenen Fällen die Verteilung der Negri'schen Körper von dem gewöhnlichen Typus abweichen kann.

Liegt aber ein zweifellos positiver Befund von Negri'schen Körpern vor, so kann man mit Bestimmtheit die Diagnose Lyssa stellen und vom Tierexperiment absehen.

Negri selbst sprach schon in seiner ersten Mitteilung die Ansicht aus, daß diese Zelleinschlüsse Protozoen und die Erreger der Hundswut wären. Die Lösung der Frage nach ihrer Bedeutung ist vor allem eng verknüpft mit der einwandfreien

Deutung der in den Einschlüssen darstellbaren Innenstrukturen, die nun im folgenden vorerst auf Grund der Arbeiten NEGRI's besprochen werden sollen.

Wie bereits erwähnt, hat NEGRI die MANN'sche Färbung zur Darstellung der Einschlüsse empfohlen, wenn dieselben auch in verschiedener Deutlichkeit bei Anwendung vieler anderer Farben und Farbengemische in Erscheinung treten. Bei genauerer Betrachtung fallen in den größeren Formen hellere, scharf begrenzte, rundliche Stellen auf, die meist so angeordnet sind, daß die Peripherie des Körpers von kleinen, untereinander gleich großen, hellroten, runden, an Vakuolen erinnernden Gebilden einge-

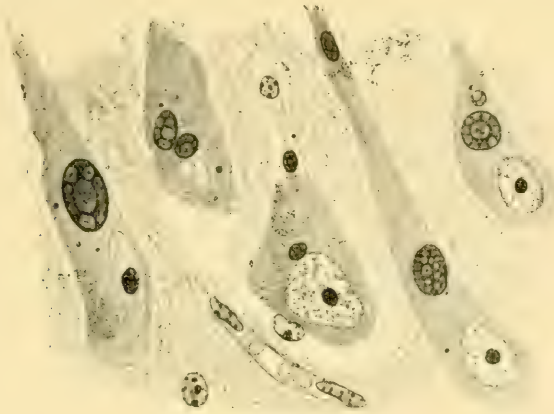


Fig. 1. NEGRI'sche Körper (Ammonshorn, Rind) mit dunkelgefärbter Grundsubstanz.

nommen ist, während das Zentrum eine bedeutend größere derartige Formation aufweist. In den großen und besonders den langgestreckten NEGRI-Körpern zeigen die kleinen Innenformationen dieselbe periphere Anordnung, und die Mitte ist dann meist von mehreren größeren, rundlichen Gebilden eingenommen. Verf. konnte dieses Verhalten der Innenkörper mit der Methode BIELSCHOFSKY's sehr deutlich zur Ansicht bringen. Mitunter kann man aber auch Einschlüsse beobachten, in welchen die inneren Formationen keine Größenunterschiede erkennen lassen, das ganze NEGRI'sche Körperchen in gleichmäßiger Weise von untereinander gleichen, kleinen, kugeligen Gebilden eingenommen ist.

Ein analoges Bild bietet sich dar, wenn man die NEGRI-Körper in frischem Zustande betrachtet. Man verfährt zu diesem Zweck in der Weise, daß man eine dünne Scheibe des Ammonshorns zwischen zwei Objektträgern etwas breit drückt, wodurch auch die graue Pyramiden-Zellschicht breiter wird und deutlicher in Erscheinung tritt. Ihr kann man nun hierauf unschwer mit der Messerspitze eine kleine Menge entnehmen und sie auf einen Objektträger in schwacher Essigsäure verteilen. Das Auffinden der größeren NEGRI-Körper in derartigen Präparaten gelingt nach einiger Übung verhältnismäßig leicht. Sie zeigen besonders dann, wenn sie durch Läsion der Ganglienzelien frei geworden sind, die Form und Anordnung der Innenformationen, welche als stärker lichtbrechende Gebilde hervortreten, besonders deutlich.

Die Zahl der Innenformationen schwankt mit der Größe des NEGRI'schen Körpers. Während die großen Körper 20—30 kleine Gebilde umschließen, nimmt die Zahl derselben mit abnehmender Größe gleichmäßig ab, bis schließlich die kleinsten Formen nur eine einzige kleine Innenformation erkennen lassen. Diese Innenkörperchen treten als ganz auffallende Gebilde dann in Erscheinung, wenn sie bei der MANN'schen Methode vom Methylenblau gefärbt bleiben, was bei sorgfältiger Durchführung des Differen-

zierungsverfahrens nicht selten gelingt. Konstanter erreicht man dieses Färbungsresultat, wenn man sich der später zu besprechenden Modifikation, welche Lentz ausgearbeitet hat, bedient. So erscheint bei dieser Färbung ein derartiger Zelleinschluß zusammengesetzt aus zweierlei Substanzen: einer, die Grundmasse darstellenden acidophilen, und einer in derselben verschieden reichlich, aber regelmäßig verteilten, mit basischen Farbstoffen sich tingierenden Substanz.

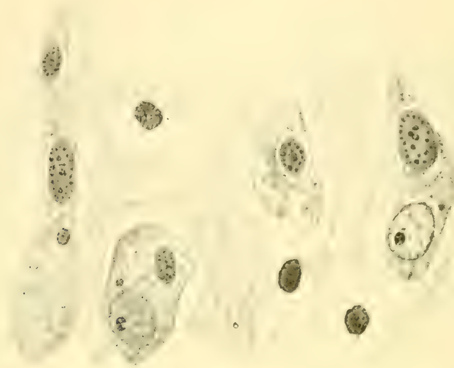


Fig. 2. Negri'sche Körper (Ammonshorn, Rind). Färbung nach Lentz.

Später verwies Negri auf eine weitere bedeutungsvolle Erscheinungsform des Parasiten, bei welcher die Innenformationen nicht das gewöhnliche Aussehen darbieten, sondern durch zahlreiche, den ganzen Körper dicht erfüllende, außerordentlich kleine Körperchen ersetzt sind. Diese Art von Zelleinschlüssen ist entweder wie gewöhnlich scharf konturiert, oder sie ermangelt einer scharfen Umrandung, so daß das ganze Gebilde eher einem dichten Körnchenhaufen gleicht, dessen Identität mit den Negri'schen Körpern weniger leicht im frischen Zustande, bestimmt jedoch durch geeignete Färbungen erwiesen werden kann. Diesen Befund erhob Negri anfänglich bei an Lyssa verendeten Rindern, dann aber auch bei vielen anderen Tieren.

Zu einer Deutung dieser Formen gelangte Negri namentlich auf Grund von Ausstrichpräparaten (die auch von anderen Autoren bevorzugt werden) und Färbung derselben nach dem Verfahren Romanowski's. Negri ging in folgender Weise vor:

1. Die dem Ammonshorn entnommene graue Substanz wird auf einen Objektträger möglichst gleichmäßig in einem Zuge verstrichen, wobei man sich der längeren Kante eines zweiten Objektträgers bedienen kann. (Da die Färbung nicht durchweg befriedigende Resultate ergibt, ist es vorteilhaft, sich von jedem Falle eine größere Anzahl derartiger Ausstriche anzufertigen.)

2. Fixierung in absolutem Alkohol oder Methylalkohol durch 20—30 Minuten.

3. Entfernung des Fixierungsmittels mit Fließpapier.

4. Färbung der lufttrockenen Präparate mit Giemsa-Lösung: 35 ccm destillierten Wassers werden mit 40—45 Tropfen des Farbstoffs versetzt, und mit dieser vorher stark erwärmten Lösung wird das mit der Schichtseite nach oben in einer flachen Schale liegende Präparat übergossen, so daß es eben von der Flüssigkeit bedeckt wird. Erneuerung der Farblösung nach 10—15 Minuten. Die Färbung ist in der Regel nach 40 Minuten bis höchstens einer Stunde vollendet.

5. Abspülen unter einem scharfen Wasserstrahl, Trocknen. Einschluß in Canadabalsam.

Wird an Stelle der GIEMSA-Lösung die Färbung nach BORREL vorgenommen, so müssen die Objektträger mit der Schichtseite nach unten gelegt und durch ein Glasbänkchen vom Boden der flachen Schale abgehoben werden. Die Farblösung wirkt auch hier 40—60 Minuten ein, und die Präparate werden nach Wasserspülung einige Minuten mit 5%iger Tanninlösung differenziert, wobei die Dauer dieser Differenzierung in jedem Falle erst durch Versuche ermittelt werden muß. Dann wird kräftig abgespült, getrocknet und eingeschlossen.

Um sichere, eindeutige Bilder zu gewinnen, empfiehlt NEGRI, mehrere Präparate anzufertigen, sich nötigenfalls beider Methoden zu bedienen, und weist ferner darauf hin, daß nicht in jedem Falle einwandfreie Darstellungen der Struktur seiner Parasiten gelingen.

Ist die Färbung gelungen, dann erscheint die Grundsubstanz des NEGRI-Körpers in einem mehr oder weniger deutlichen blauen Farbenton und enthält, je nach der Größe des Gebildes, eine verschieden große Zahl kleinster Körperchen, welche den kleinen Innenformationen entsprechen, und eine rote resp. rotviolette Färbung angenommen haben. Die größeren, zentralen Innenformationen präsentieren sich als runde oder ovale Gebilde mit eingestreuten, verschieden großen und verschieden zahlreichen Chromatinklümpchen. Alle diese Chromatinanhäufungen sind nun nicht homogen, sondern lassen bei Anwendung guter Linsensysteme, bei entsprechender Beleuchtung und bei nicht allzu intensiver Färbung außer der roten Chromatinmasse auch noch dunkler gefärbte Anteile erkennen, und zwar in Form von kleinsten Pünktchen oder länglichen, mitunter gekrümmten Gebilden. Diese Pünktchen sind in den kleinen Chromatinkernen oft zu weit in Diploform angeordnet. NEGRI beobachtete nun unter diesen typischen größeren Formen alle Übergänge zu den seltenen Bildungen, in welchen der ganze Körper des Zelleinschlusses vollständig und gleichmäßig von kleinen Chromatinkörnchen durchsetzt ist, und konnte ferner konstatieren, daß sich mitunter um ein jedes der letzteren in der blauen Grundsubstanz eine hellere, zarte Hülle nachweisen läßt, so daß in dieser Weise an einem jeden solchen Körperchen eine gewisse Selbständigkeit zum Ausdruck kommt. Letztere Eigenschaft tritt ganz besonders dann in Erscheinung, wenn — augenscheinlich infolge mechanischer Läsionen — sich diese kleinen Bestandteile des NEGRI-Körpers in der Peripherie desselben tatsächlich loslösen. Solche NEGRI'sche Körperchen besitzen nicht, wie die meisten anderen, einen scharfen, glatten Rand, sondern sind infolge der partiellen Isolierung ihrer Bestandteile feinzackig konturiert.

Nun enthalten aber selbst die kleinen, eben noch als solche erkennbaren NEGRI'schen Körper gleichfalls eine färberisch darstellbare Chromatinsubstanz, in Form eines einzigen Kornes, welches rotviolett tingiert wird und auch dunkler gefärbte Anteile erkennen läßt. Je größer der Zelleinschluß ist, um so zahlreicher sind die chromatischen Klümpchen in den Körpern enthalten, so daß sich alle Übergänge, von den kleinsten bis zu den großen NEGRI-Körpern auffinden lassen, denen allen als gemeinsames charakteristisches Merkmal der Gehalt an wohl charakterisierten „Kernsubstanzen" zukommt. Diese Kernsubstanzen analogisierte NEGRI mit den Kerngebilden anderer Protozoen, bei welchen unter Umständen auch ein zerstreuter Kern (besonders vor der Sporenbildung) beobachtet werden kann, und hält die nach ROMANOWSKI-Färbungen hellblau erscheischeinende Grundsubstanz für das Protoplasma des Parasiten, für welchen er die von CALKINS in Vorschlag gebrachte Bezeichnung „Neuroryktes hydrophobiae" akzeptierte. Die von ihm beobachtete Umwandlung des Zelleinschlusses in ein Konglomerat kleinster, untereinander gleicher Gebilde mit nukleärem Korn und homogener Hülle würde nach seiner Ansicht der Sporulationsphase entsprechen. Der NEGRI'schen Auffassung schlossen sich auch andere Autoren an, so namentlich WILLIAMS und LOWDEN, die in der Struktur der Zelleinschlüsse eine Ähnlichkeit mit der der Knidosporen erblickten.

Andere Forscher halten jedoch die NEGRI'schen Körper als solche nicht für Para-

siten. So gelangte schon Volpino zu einer von Negri's Auffassung wesentlich abweichenden Meinung. Volpino bediente sich zur färberischen Darstellung der Einschlüsse anfänglich vorwiegend des Laveranschen Gemisches, mit welchem sich an den Körpern eine dünne, azurblaue Membran, eine rotviolette, struktkulose Grundmasse und verschieden große Innenformationen darstellen lassen, welch letztere nur schwach rot oder leicht azurfarbig erscheinen, und in welchen kleinste, stark blau sich färbende basophile, teils punkt- teils ringförmige oder auch stäbchenartige Körperchen zu erkennen sind.

Im weiteren Verlauf seiner Untersuchungen bevorzugte Volpino folgende Methode: Fixation in mit Essigsäure angesäuerter konzentrierter wässeriger Sublimatlösung oder auch in 95%igem Alkohol. Die Schnitte werden ca. 24 Stunden mit Pikrokarmin vorgefärbt, dann in Wasser abgespült und mit einer schwach alkalischen Methylenblaulösung nachgefärbt Zu diesem Zweck wird eine 1%ige Lösung von Methylenblau med. pur. Höchst mit einigen Tropfen einer schwachen Sodalösung versetzt, vor dem Gebrauch mit destilliertem Wasser stark verdünnt und mit dieser Lösung ca. ½ Stunde lang gefärbt. Die Schnitte werden dann mit Wasser gewaschen, ein Teil des Methylenblaus wird durch die folgende Behandlung mit absolutem Alkohol extrahiert und die Differenzierung dann mit Pikrinalkohol vollendet. Die Schnitte müssen schließlich wieder ihre ursprüngliche gelblichrote Farbe annehmen, die sie in Pikrokarmin erlangt hatten. — Das Verfahren ist schwierig, und gute Resultate werden wohl erst nach längerer Übung erreicht.

Die Grundmasse der Negri'schen Körper erscheint dann lebhaft gelb, mit einem Stich ins Grünliche. Die ungefärbten Innenformationen hält Volpino für wirkliche Vakuolen, welche erst die basophil sich tingierenden Innenkörperchen enthalten. Die kleinsten Formen der Negri'schen Körper weisen meist ein, selten mehrere „Zentralkörper" auf, die der Hauptmasse nach aus einer rötlich erscheinenden Substanz bestehen, in welcher blau oder schwarzblau tingierte Anteile sichtbar sind. Stäbchenförmige Körperchen tragen ein basophiles Korn an beiden Polen oder nur an einem Ende, während der übrige Teil des Stäbchens rot erscheint, bei den ringförmigen sind die blauen Granula im Ring verstreut angeordnet, während die Mitte des Ringes farblos bleibt. Die kleinsten peripheren Innenkörper, die man bei den größeren Einschlüssen findet, und die eine Größe von nur $^1/_{10}$—$^2/_{10}$ μ besitzen, bestehen meist nur aus der basophilen Substanz.

Volpino sah nun in Fällen von vorgeschrittener ausgesprochener Wut, daß diese kleinsten basophilen Körperchen mitunter so weit in der Peripherie des Negri'schen Körpers liegen, daß sie ein wenig über den Rand derselben hinausragen und scheinbar im Austreten begriffen sind. Dabei bot der Zentralkörper Zeichen einer Involution mit oft extremer Reduktion seiner basophilen Anteile, so daß an ihm nur die mit Karmin rot gefärbte Grundsubstanz noch zu erkennen war. Volpino bezeichnet dann ein derartiges Gebilde als „Restkörper" und ist der Ansicht, daß die feinsten peripheren Körperchen Produkte sind einer speziellen Art von Vervielfältigung, welche das Zentralkörperchen im Innern des Negri-Körpers eingeht.

Volpino hält die Innenformationen für die eigentlichen Krankheitserreger, welche die Nervenzelle mit einer homogenen Hülle umgibt, und zieht eine Parallele zwischen dem Lyssavirus und anderen filtrierbaren Virusarten. Er schließt sich hierin der Auffassung Prowazek's an, welcher die Negri'schen Wutkörper mit den Zelleinschlüssen bei Vaccine, Trachom, Scharlach, wohl auch Hühnerpest, analogisiert und die in den Einschlüssen befindlichen Krankheitserreger in eine eigene Gruppe, die Chlamydozoen, vereinigt hat.

Auch Babes hält die Wutkörperchen Negri's nicht für Parasiten und ist der Meinung, daß sie sich in folgender Weise entwickeln: Zunächst entsteht in einem Teil der Nervenzelle eine homogene Verdichtung des Cytoplasmas, die, anfänglich unscharf

begrenzt, sich metachromatisch färbt und in ihrem Innern in hellen Räumen eingeschlossen die an NEGRI'schen Körpern sonst sichtbaren, kleinen, verschieden gestalteten Körperchen enthält. Allmählich soll sich nun dieser entartete Zellanteil immer deutlicher abgrenzen und die dem NEGRI-Körper eigene rundliche Form annehmen. So würde danach der NEGRIsche Körper ein Gebilde darstellen, welches als Reaktionsprodukt der Zelle auf das Eindringen eines irritativen Elements hin zustande kommt, indem sich zunächst, ohne daß die Vitalität der Zelle beeinträchtigt wird, eine Art Koagulationsnekrose in einem Teil des Zellprotoplasmas entwickelt und dieser Abschnitt des Zelleibes dann eingekapselt resp. sequestriert wird. BABES verweist mit anderen Autoren nachdrücklichst auf den Umstand, daß die NEGRI-Körper gerade an solchen Stellen reichlich vorhanden sind, von welchen die Wutsymptome, die ja vorwiegend bulbären und medullären Ursprungs sind, nicht oder nicht ausschließlich ausgelöst werden. BABES meint auch, daß unmöglich im verlängerten Mark und im Rückenmark, wo sich die intensivsten histologischen Veränderungen nachweisen lassen, die Wuterreger fehlen oder weniger zahlreich vorhanden sein sollten. Er versucht, die Lokalisation der Einschlüsse mit der Annahme zu erklären, daß nur an gewissen Stellen des Zentralnervensystems (Ammonshorn, Kleinhirn usw.) die Nervenzellen eine hohe Resistenz gegenüber dem Lyssavirus besitzen und infolgedessen imstande sind, die eingedrungenen reizenden Elemente zu isolieren und unschädlich zu machen.

In den Abschnitten des Zentralnervensystems mit nur spärlichen oder fehlenden NEGRI-Körpern, dagegen stark ausgesprochenen zelligen Veränderungen und reaktiven Infiltraten hat nun BABES mit Hilfe der RAMON Y CAJALschen Silberimprägnationsmethode zwischen den verdickten und verquollenen Neurofibrillen kleinste Körperchen beobachtet, welche die Größe von ungefähr $^1/_{10}$ μ besitzen und sich entweder mit Silber imprägnieren oder bei einer Nachfärbung dieser Präparate mit GIEMSA-Farbstoff eine blaue Färbung annehmen. Sie liegen in kleinen rundlichen oder sinuösen Lücken, und zwar immer nur im Cytoplasma, nie im Kern. BABES meint, daß bestimmt nicht belanglose Silberpräzipitate vorliegen, und gibt der Vermutung Ausdruck, daß mit Rücksicht auf ihre Verbreitungsweise, ihre Form, Größe und auch ihre Färbbarkeit nach GIEMSA diese Gebilde die Parasiten der Wut im aktiven Zustande darstellen.

VOLPINO machte hierauf ähnliche Beobachtungen und sah alle Übergänge, von kleinsten freien Körpern, umgeben von einem klaren Hof, zu solchen Gebilden, die bereits umschlossen waren von einer dichteren Lage leicht acidophiler Substanz, und endlich zu typischen NEGRIschen Zelleinschlüssen.

KOCH und RISSLING haben bei protrahierter Färbung mit verdünntem Anilinwasser- oder Karbolfuchsin, ferner mit Eisenhämatoxylin und auch der v. KROGHschen Methode (Färben mit polychromem Methylenblau, Beizen mit 20 % Chromsäure, Differenzieren mit 5 % Gerbsäure) auffallend zahlreiche kleinste Gebilde darstellen können, welche sie für die eigentlichen Erreger der Wut halten und auch mit den kleinen Innenkörpern der NEGRI'schen Einschlüsse identifizieren. Diese finden sich nur in der grauen Substanz in den Nervenzellen wie auch außerhalb derselben, stehen entweder einzeln oder sind in Diploform angeordnet, seltener formieren sie 3—4 gliedrige Ketten. In ihrer Größe gibt es alle Übergänge von der eines kleinen Kokkus bis zu eben noch wahrnehmbaren Pünktchen. Die meisten sind kugelig und erscheinen mitunter durch feine Linien halbiert oder in vier gleiche Teile geteilt. Oft umgibt sie ein schmaler, heller Hof.

KOCH und RISSLING mahnen selbst, was bei diesem Befund begreiflich erscheint, zu größter Vorsicht vor Verwechslung mit Zerfallsprodukten der Zellen und sonstigen nicht spezifischen Granulis (PACE). An Ausstrichpräparaten ist es LIPSCHÜTZ allerdings nicht gelungen, zu exakten, typischen Befunden, wie etwa bei anderen filtrierbaren Virusarten, zu gelangen.

Während also nach der Meinung dieser und anderer Autoren die Negri'schen Körper Reaktionsprodukte sind, die den eigentlichen Erreger in sich einschließen, halten andere, wie Amato, die Babesschen freien Körperchen nicht für identisch mit den Innenkörpern der Negri'schen Einschlüsse, sind auch nicht der Ansicht, daß sich die letzteren durch die Bildung einer acidophilen Hülle um das irritative Element entwickeln, halten sie überhaupt nicht für parasitäre Bildungen, sondern für spezifische Degenerationsprodukte der Zellen.

Amato verwies besonders auf den Umstand, daß nach subduraler Implantation von Ammonshornpartikeln die Negri'schen Körper in denselben zwar noch nach 4—5 Tagen zu erkennen sind, jedoch keine Veränderungen darbieten, die auf aktive biologische Prozesse schließen lassen könnten, und daß keine Ausstreuung von kleinen Körperchen, weder im Ammonshornrest noch im angrenzenden Hirn des Versuchstieres zu konstatieren ist. Die Einschlüsse verschwinden schließlich spurlos sowohl nach subduraler wie nach intraperitonealer Implantation. Auch Lentz kam zu gleichen Resultaten. Und da außerdem die Negri-Körper nach seinen Befunden sich in degenerierten Zellen schlechter färberisch darstellen lassen, und auch bei fortschreitender Fäulnis zunächst die Innenstruktur, später auch selbst die acidophile Substanz Farbstoffe schlecht annimmt,[1]) schloß Lentz, daß die Körper äußeren Schädlichkeiten gegenüber sehr wenig widerstandsfähige Produkte der sie einschließenden Ganglienzellen sind. In gleichem Sinne deutete Lentz den in mehreren Versuchsreihen erhobenen Befund, daß die Zahl der Negri'schen Körper vom Impfmaterial und von der Individualität der Versuchstiere, ihre Größe von der Krankheitsdauer, aber nicht von der Länge der Inkubation abhängig ist. Wenn öfter bei allen Tieren eines Versuchs eine Übereinstimmung in der Zahl der Negri-Körper sich konstatieren läßt, so spreche dies nur im Sinne einer gleichen Reaktion auf die gleiche Schädlichkeit, und wenn die Negri-Körper nur größer werden bei längerer Dauer der Krankheit, so sei dies eben zurückzuführen auf die längere Dauer der Reaktion des infizierten Organismus auf den schädlichen Reiz.

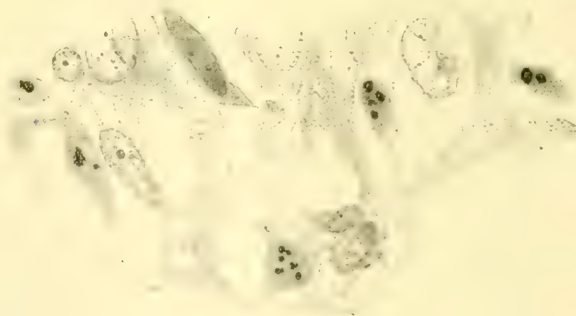


Fig. 3. Passagewutkörper.

Von großem Interesse ist ein Befund, welchen Lentz an den Gehirnen von Passagewutkaninchen erhoben hat. Er fand im Ammonshorn solcher Tiere, und zwar in jenem Teil der Pyramidenzellschicht, welcher der Fimbrie gegenüberliegt, rundlich-ovale oder spindelige, seltener runde Körper, deren Grundsubstanz ebenso wie die der Negri-Körper sich mit Eosin intensiv rot färbt, und die im Inneren mehrere klumpige An-

[1]) Mazzei fand, ebenso wie Bandini, daß die Negri'schen Körper der Fäulnis gegenüber eine ziemliche Widerstandskraft besitzen.

häufungen einer mit Methylenblau stark sich tingierenden Substanz aufweisen. Lentz bezeichnet hier ebenso wie bei den Negri'schen Körpern die eosinophile Grundmasse als Chromatin-Substanz und die basophilen Anteile als Plastinsubstanz. Diese Gebilde sind viel größer als die bei Kaninchen sonst vorkommenden Negri-Körper und unterscheiden sich ferner auch dadurch von diesen, daß die basophilen Innenkörper groß und massig, nicht scharf umschrieben und punktförmig sind, und ferner auch dadurch, daß sie nicht wie die Negri'schen Körper in relativ gut erhaltenen Ganglienzellen liegen.

Sie färben sich am besten nach der Lentz'schen Modifikation der Methode Mann's und nach Heidenhain, weniger gut nach dem ursprünglichen Mann'schen Verfahren. Der Vorgang bei der Durchführung der Methode von Lentz ist folgender: Dünne Paraffinschnitte (von in Aceton-Alkohol oder in einem Sublimat-Gemisch fixiertem Material) werden mit einer $^{1}/_{2}$ %igen Lösung von Eosin in 60 %igem Alkohol gefärbt, hierauf mit Wasser abgespült, mit Löffler's Methylenblau 1 Minute nachgefärbt, dann wieder abgespült, mit Fließpapier getrocknet und hierauf die Schnitte in folgender Lösung so lange differenziert, bis sie blaßrosa erscheinen: Alkohol absolutiss. 30 versetzt mit 5 Tropfen einer 1 %igen Lösung von Natronlauge in alsolutem Alkohol. Hierauf werden die Schnitte in einen Alkohol übertragen, dem auf 30 ccm 1 Tropfen einer 50 %igen Essigsäure zugesetzt worden ist, und so lange belassen, bis die Ganglienzellenschichte nur noch schwach blau erscheint Dann wird mit absolutem Alkohol abgespült, mit Xylol aufgehellt, in Kanadabalsam eingeschlossen.

Unter 134 verschiedenen ersten Kaninchenpassagen gelang es Lentz, die von ihm entdeckten Bildungen nur in 7 Fällen nachzuweisen, also in 5,22 %. Unter denselben Tieren haben 108, also 80,6 % Negri-Körper dargeboten. Unter 32 Kaninchen der zweiten Passage zeigten schon 10, also 31,25 % die Lentz'schen Gebilde, während die Negri'schen Körper nur mehr in 22 Fällen, also 68 % nachzuweisen waren. Diese Zahlen zeigen, wie das Auftreten der Lentz'schen Körper, einen morphologischen Ausdruck für die sich vollziehende Umwandlung des Straßenvirus nach der Seite des Passagevirus hin darstellt Diese Erscheinung ist eine so charakteristische, daß Lentz in Fällen, in welchen die Frage zu entscheiden wäre, ob eine Infektion mit Straßenvirus oder Virus fixe vorliegt, empfiehlt, eine große Zahl von Kaninchen zu impfen und nachzusehen, wie reichlich in der ersten Passage die Lentz'schen Gebilde sich vorfinden. Ihr spärliches Auftreten oder gar ihr vollständiges Fehlen würde für Strassenvirus, ihr reichliches Vorhandensein für Virus fixe sprechen. (Allerdings ist in der Regel in solchen Fällen die Länge der Inkubation allein schon ausschlaggebend.)

Lentz, welcher diese Gebilde „Passagewutkörperchen" nennt, konnte deutlich ihre Entstehung aus dem Kern der Ganglienzelle verfolgen. Unter klumpiger Zusammenballung formiert die basophile Plastinsubstanz mit Methylenblau stark sich tingierende Granula, so daß das Kernstroma nur noch das acidophile Chromatin enthält. Der Kern schrumpft in toto, und das Zellprotoplasma der Ganglienzelle bleibt entweder nur zum Teil noch an dem Passagewutkörper erhalten, oder es schwindet vollständig, so daß dann die Provenienz des Körperchens aus einem Zellkern nicht ohne weiteres ersichtlich ist.

Lentz vertritt nun die Ansicht, daß, wenn man die parasitäre Natur der Negri-Körper anerkennen wollte, man auch notwendigerweise in den Passagewutkörperchen resp. in ihren Innenkörpern Wutparasiten sehen müßte. Doch nimmt er an, daß die Passagewutkörper unter dem Einflusse eines spezifischen Virus sich bilden, und daß auch die Negri-Körper einem analogen Degenerationsprozeß der Ganglienzellen ihre Entstehung verdanken. Die Negri-Körper sollen sich hierbei aus dem Chromatin und Plastin des Cytoplasmas entwickeln, die Passagewutkörperchen aus den gleichen Substanzen des Zellkerns.

Endlich verweist Lentz zur Stütze seiner Ansicht auf die von ihm und auch von

Standfuss entdeckten, ebenso von Mazzei beschriebenen sog. „Staupekörper“ Es sind dies Körperchen, die sich mit Eosin rot färben, teils frei liegen, teils noch von Resten des Protoplasmas der zerfallenen Nervenzellen umschlossen sind. Sie sind rundlich oder oval und erreichen nur höchstens die Größe eines roten Blutkörperchens.

Dadurch, daß sie in gut erhaltenen Ganglienzellen vollständig fehlen und keine basophilen Innenkörper besitzen, unterscheiden sich diese Gebilde von den Negrischen Körpern. Lentz stellt sich ihre Genese in der Weise vor, daß unter der Einwirkung eines spezifischen Virus in erster Linie das Plastin des Zellkerns leidet, vollständig zugrunde geht, und daß die restierende Chromatinsubstanz sich zu den Staupekörperchen verdichtet. Auch diese Gebilde analogisiert Lentz als Zelldegenerationsprodukte mit den Negri'schen Körpern und den Passagewutkörperchen.

Letztere hielt jedoch Pinzani nicht für spezifisch, während Kozewaloff der Ansicht ist, daß sie ebenso wie die Negri'schen Einschlüsse parasitäre Bildungen darstellen. Keysser steht auf dem Standpunkt von Lentz.

Aus diesen verschiedenen Befunden und Anschauungen geht wohl zur Genüge hervor, daß eine Einheitlichkeit in der Auffassung der Negri'schen Körper nicht besteht. Bisher ist eine endgültige Entscheidung der Frage nicht erfolgt, ob man sie als die parasitären Erreger der Lyssa oder als bloße Reaktionsprodukte der Zellen aufzufassen hat, oder ob sie Produkte der Zellen darstellen, welche die Erreger in sich einschließen. Meist neigt man wohl zu der letzteren Ansicht, für welche auch, wie erwähnt, analoge Beobachtungen bei anderen Krankheiten sprechen. Es wird die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, diese Divergenz in den jetzt herrschenden Ansichten zu beseitigen.

Der wiederholt hervorgehobene Umstand, daß das Virus der Lyssa filtrierbar ist, spricht nach dem Gesagten weder gegen die Ansicht Negri's noch gegen die von Prowazek und Volpino, da sicherlich sowohl die sog. Sporen als auch die kleinen im Zelleinschluß befindlichen oder auch die freien Körperchen Tonfilter passieren könnten. Diese Gebilde können auch in allen infektiösen Gewebsteilen vorhanden sein und auch in jenen sicheren Fällen von Lyssa, in welchen sich Negri'sche Körper nicht auffinden lassen. Ihr völlig einwandfreier histologischer Nachweis ist bisher nicht mit Sicherheit durchzuführen, da die zu ihrer Darstellung empfohlenen Methoden teils unzuverlässig sind (wie die Silberimprägnation), teils eine bestimmte Differenzierung gegenüber anderen Granulis nicht gestatten.

Über die Wirkung physikalischer und chemischer Agentien auf das Lyssavirus.

Unter dem hohen Druck der Buchner'schen Presse wird die Virulenz nicht verändert (Heller und Bertarelli), ebenso kann das Virus nach Roux und Nocard unter einem Druck von 8 Atmosphären bis 60 Stunden aufbewahrt werden, ohne daß es geschädigt würde; dagegen wiedersteht es nicht einer längeren mechanischen Beeinflussung im Macfadyen'schen Apparate. Es erweist sich hier nach einem ½—3-stündigen Verreiben als avirulent (Baratt, Heller). Durch rasches mehrstündiges Zentrifugieren einer Aufschwemmung des Virus kann dasselbe so vollständig ausgeschleudert werden, daß die über dem Centrifugat befindliche Flüssigkeit nicht mehr virulent erscheint (Baratt, Remlinger). Wird emulgiertes Virus unter höherem Druck durch Tonfilter (am besten Berkefeld V) filtriert, so erweist sich das Filtrat als virulent. Kaninchen erkranken, wenn auch inkonstant, nach einem verlängerten Inkubationsstadium (Remlinger und Riffat Bey, Celli und Blasi).

In Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung bis auf 1: 200 wirkt das Virus fixe ebenso wie in konzentriertem Zustande, von da ab bis 1: 1000 verlängert

sich die Inkubation, während bei Verdünnungen auf 1:5000 nur einzelne Tiere, und zwar mit deutlich verlängerter Inkubation erkranken. Auf 1:10000 verdünntes Virus ist meist vollständig inaktiv (Högyes). In gleicher Weise bewirkt die Austrocknung nach Pasteur, Roux und Chamberland ein „Appauvrissement en quantité“ des Wutgiftes, so daß ein bei 23° C über Kali causticum getrocknetes Rückenmark vom Virus fixe etwa nach 12 Tagen avirulent wird. Wird aber das Virus im luftleeren, feuchten Raum aufbewahrt, so behält es seine Virulenz (Viala), ebenso auch dann, wenn Scheiben des Rückenmarks rasch im Vakuum getrocknet werden (Vansteenberghe). Wie von der Luft, wird auch vom Licht die Virulenz nachteilig beeinflußt. Sie erlischt bei Belichtung allein nach 20 Tagen (Kempner), bei gleichzeitiger Erwärmung auf Körpertemperatur schon nach 40 Stunden (Celli); auch wird sie nach Högyes schon durch ein halbstündiges Erwärmen auf 52—58° vollständig vernichtet. Dagegen verträgt das Virus ohne Nachteil die tiefsten Temperaturen. Baratt fand es noch virulent, nachdem es 3 Monate hindurch bei —190° C gehalten worden war.

Die Wirkung von Röntgenstrahlen ist kaum von Belang. Während einzelne Autoren (Högyes, Frantzius) überhaupt keine Wirkung haben beobachten können, fanden andere, daß mit bestrahltem Virus infizierte Tiere eine etwas längere Krankheitsdauer aufweisen, und daß mit Röntgenstrahlen behandelte Tiere etwa 24 Stunden später eingehen als nicht bestrahlte (Ceni, Calabrese). Das Radium soll nach Tizzoni und Bongiovanni imstande sein, nicht nur das Virus in vitro zu zerstören und — während der Inkubation angewendet — Tiere vor der Erkrankung zu bewahren, sondern auch eine Heilung der bereits ausgebrochenen Krankheit herbeizuführen. Andere Autoren haben dies nicht bestätigen können (Calabrese, Novy, Danysz).

Von chemischen Agentien schädigen die meisten Antiseptika die Virulenz und zerstören sie schon in hohen Verdünnungen (Sublimat 1‰ vernichtet die Virulenz in 2—3 Stunden, 5 % Karbolsäure in ca. 1 Stunde, 5 % Salicylsäure in 5 Minuten usw.). Ähnlich wirken auch organische Säuren (Cano). Formalindämpfe vernichten Lyssavirus schon nach 15—45 Minuten. Das Glycerin schwächt die Virulenz nur äußerst langsam, und es hängt die Intensität der Abschwächung von der Größe der der Einwirkung ausgesetzten Gehirnteile, von der Temperatur und von dem Konzentrationsgrad der Flüssigkeit ab. Große Stücke bewahren ihre Virulenz mehrere Wochen, weshalb das Glycerin auch als Konservierungsmittel beim Transport des Virus verwendet wird. Auch die Negrischen Körper bleiben darin lange Zeit erhalten (Mazzei).

Methylenblau ist in 3 %iger Lösung wirksam. Keine sichere Beeinflussung ergibt jedoch Trypanrot, Trypanblau, Parafuchsin. Papain schwächt und zerstört das Wutvirus (Marie, Fermi), desgleichen Saponin und Solanin in 1 %iger Lösung (v. Eisler). Keinerlei Wirkung äußert das Atoxyl (Kraus, Grünberg, Heymann, Lentz).

Von Körperflüssigkeiten vernichten das Wutvirus: Magensaft (Valli, Tizzoni, Babes), Galle (Frantzius), Peritonealflüssigkeit (Remlinger und Marie).

Lyssa-Immunität.

Pasteur hat gezeigt, daß eine Immunisierung gegen Lyssa möglich ist. Er verwendete hierzu als Vaccin zuerst das durch Passage im Affen abgeschwächte Virus, dann das durch Trocknen in seiner Virulenz herabgesetzte Virus fixe des Kaninchens. Die Methode bestand in der sukzessiven Einverleibung von Emulsionen des immer kürzer getrockneten Markes — vom 14tägigen angefangen. Der Nachweis der Immuni-

tät an so behandelten Hunden wurde dadurch erbracht, daß sie den Biß wütender Hunde schadlos ertrugen. Pasteur übte dann das Verfahren auch postinfektionell beim Menschen.

Man verfährt jetzt im allgemeinen in der Weise, daß man 1 ccm des Markes mit 1—5 ccm physiologischer Kochsalzlösung verreibt und von dieser Emulsion 1—3 ccm subkutan injiziert. Die Injektionen werden täglich mit immer kürzer getrocknetem Mark ausgeführt, wobei man aber im Verlauf der Impfungen, bei frischerem Impfstoff angelangt, wieder auf länger getrocknetes Mark zurückgreift. Im speziellen ist die Ausführung der Impfung in verschiedenen Wutschutzanstalten verschieden, sowohl mit Rücksicht auf das Alter des anfangs verwendeten Impfstoffes und die Menge des injizierten Materials, als auch mit Rücksicht auf die Dauer der Impfung. So schwankt die letztere zwischen 14 Tagen und einem Monat. Auch hält man sich in vielen Instituten an verschiedene Schemen, sog. „leichte" und „intensive", die je nach der Schwere des Falles zur Anwendung kommen. So hat Pasteur selbst bei schweren Fällen in den ersten drei Tagen zweimal täglich injiziert, um so schon am dritten Tage zur Anwendung vollvirulenten Markes zu gelangen. Zur Ersparnis von Tiermaterial (in wenig frequentierten Anstalten) kann man nach Calmette Impfmarkserien verwenden, die in Glycerin (jedoch nicht länger als einen Monat) aufgehoben worden sind.

Im Prinzip durchaus gleich ist die Dilutionsmethode von Högyes, bei welcher ein Teil des frischen Markes mit 100 Teilen steriler Kochsalzlösung verrieben wird. Von dieser Emulsion werden Verdünnungen bis 1: 10 000 bereitet, welche der Reihe nach für Kaninchen ebenso immer weniger virulent sind wie immer länger getrocknetes Mark. Man beginnt bei der Schutzimpfung mit den höchsten Verdünnungen, bis man am Schluß derselben bei der Verdünnung von 1: 100 angelangt ist, welche die Virulenz eines konzentrierten Virus besitzt.

Eine andere Modifikation beruht auf dem Befund, daß das Virus nach kurzer Einwirkung höherer Temperaturen (56—58°) eine Abschwächung erfährt und bei längerer Dauer der Erwärmung seine Virulenz verliert. Auch mit einer so gewonnenen Impfstoffserie kann mit Erfolg immunisiert werden (Babes, Puscariu).

Babes bereitet in den letzten Jahren in seinem Institut die Emulsionen der nach Pasteur getrockneten Marke mit einer filtrierten und auf 80° erhitzten, also avirulenten Aufschwemmung von Virus fixe (1: 100), wobei die schwach immunisierende Wirkung dieses Filtrates auch mit zur Geltung kommen soll (rumänische Methode). Zur Schutzimpfung von Tieren und namentlich zur Erzielung einer hoheren Immunität wird auch die sog. italienische Methode verwendet. Bei dieser erfährt das Impfmaterial eine systematische Abschwächung durch Einwirkung natürlichen (Tizzoni und Centanni) oder künstlichen Magensaftes (Babes, Talasescu). Ferran injiziert, von der Tatsache ausgehend, daß unverändertes Virus fixe für den Menschen nicht virulent ist, durch 10 Tage hindurch je 3—4 ccm einer Aufschwemmung nicht abgeschwächten Impfmarkes. Tatsächlich scheint auch das fixe Passagevirus für den Menschen nicht virulent zu sein (Nitsch). Auch ist bei den vielen Tausenden von bisher ausgeführten Schutzimpfungen — auch bei nicht infizierten Menschen — nie eine künstliche Infektion zustande gekommen.

Die Immunität tritt nach der Pasteur'schen Schutzimpfung 14—20 Tage nach Beendigung derselben auf und dauert in der Regel etwa 1 bis 2 Jahre, nur selten länger.

Die Erfolge sind zweifellos. Nach den Berechnungen der verschiedenen Institute schwankt die Mortalität im Durchschnitt von 0,5—1 %, wobei jene Fälle nicht als Mißerfolge angesehen werden, in welchen die Wut während der Behandlung oder 15 Tage nach derselben zum Ausbruch kommt. Dazu gehören außer jenen Fällen, die erst längere Zeit nach erfolgter Infektion behandelt wurden, meist solche mit Verletzungen

am Kopfe und besonders durch wütende Wölfe verletzte. Im allgemeinen ist die Methode PASTEUR's für Fälle mit einer Inkubation von ca. 30 Tagen unzureichend.

Das Serum immunisierter Tiere ist imstande, die Virulenz einer dichten Virus-fixe-Emulsion (1 : 100) in etwa 24 Stunden zu vernichten. BABES meint, daß ein solches Serum eine prä- und postinfektionelle Wirkung ausübt, weshalb er auch in schweren Fällen die PASTEURsche Schutzimpfung mit der Serumbehandlung kombiniert. Die gleiche Ansicht von der präventiven und kurativen Wirkung dieser Sera gewannen auch TIZZONI und CENTANI, ebenso FERMI, doch konnten andere Autoren (KRAUS, MARIE) keinerlei Einfluß desselben auf die Entwicklung und Dauer der Krankheit feststellen. Weder nach subkutaner, intravenöser, peritonealer, noch nach intraspinaler Injektion auch größerer Serummengen ist es möglich, den Ausbruch der Krankheit hintanzuhalten. Es ließ sich nur die rabizide Wirkung in vitro nachweisen. Solche rabizide Substanzen liefern die für die Lyssa empfänglichen Tiere mit Ausnahme der Hühner (KRAUS und MARESCH). Beim Menschen verzögert sich nach KRAUS und KREISSL mitunter erheblich die Bildung der Schutzstoffe, die gewöhnlich etwa 20 Tage nach der letzten Injektion vollendet ist.

Um bei der Immunisierung dem Organismus möglichst bald größere Mengen von fixem Virus in unschädlicher Form zuzuführen, hat MARIE mit Benutzung der rabiziden Sera Immunität in der Weise erzielt, daß er mit Antiserum versetztes Virus fixe injizierte. Die Bildung der Schutzstoffe erfolgt da viel rascher als nach dem PASTEUR'schen Verfahren. Im Institut PASTEUR wird seit Jahren die Schutzimpfung in der Weise vorgenommen, daß eine Emulsion von fixem Virus mit inaktiviertem Antilyssaserum vom Hammel so versetzt wird, daß das Gemisch einen leichten Überschuß an Virus aufweist, und mit dieser Mischung drei Tage vorbehandelt wird, worauf die Immunisierung mit virulentem Material (vom sechstägigen angefangen) ihre Fortsetzung findet.

Die Immunität kommt bei der PASTEURschen Schutzimpfung nach MARX in der Weise zustande, daß das Virus fixe im Organismus leicht zerstört wird, sich im Körper verbreitet und die Bildung von Schutzstoffen anregt. Diese Wirkung des Virus als Antigen wird noch dadurch unterstützt, daß der menschliche Organismus an sich imstande zu sein scheint, das Wutvirus abzuschwächen resp. unschädlich zu machen. So hat PALTAUF bei Menschen, die ca. 26 Tage nach erfolgtem Biß teils während, teils kurz nach der Schutzimpfung an interkurrenten Krankheiten gestorben waren, das Virus im Zentralnervensystem nachweisen können, und zwar in abgeschwächter Form, da nach der experimentellen Übertragung die Kaninchen nach langer Inkubation an konsumptiver Lyssa zugrunde gingen.

Die Meinung FERMIS, daß normale Gehirnsubstanz dieselben antigenen Eigenschaften wie das Lyssavirus zu entfalten vermag, wird von einigen Autoren geteilt (BABES, SIMICI, REPETTO), von anderen jedoch nicht akzeptiert (KRAUS und FUKUHARA, REMLINGER).

Der Nachweis der rabiziden Immunsubstanzen mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion gelingt nicht (DONATI und SASSA, DOBROWALSKAJA).

———

Verzeichnis der wichtigsten, die Negri'schen Zelleinschlüsse betreffenden Arbeiten.

Abba u. Bormans, Sulla diagnosi istolog. d. rabbia. (Riv. d'Ig. e San. publ. 1905, t. 16.)
Dieselben, Sur le diagn. histolog. de la rage. (Ann. de l'Inst. Past., t. 19, p. 49.)
d'Amato, I corpi di Negri i rapporto all' eziologia e diagnosi d. rabb. (La Rif. med. 1904, anno XX, No. 23.)
Derselbe, Ulter. ricerche sui corpi di Negri. Ibid. No. 45.
Derselbe, Sulla eziologia della rabbia. (Gazz. d. osped. 1903 u. Atti del congresso di Med. int. Padone 1903, ott., p. 4.)
d'Amato u. Faggella, Negri'sche Körper, Lentz'sche Körper und Veränderungen der nervösen Zentren in der Wutkrankheit. (Zeitschr. f. H. 1910, Bd. 65, p. 353.)
Anselmier, Über den Nachweis und die Form der Negri-Körper beim Affen, Fuchs und Hamster. (Beobachtungen a. d. Institut z. Erforschung d. Infektionskrankheiten in Bern 1908, p. 83.)
Babes, Versuche zur Auffindung der Wutmikroben. (Sitzung d. rumän. Akad. 1903, 3. Okt.)
Derselbe, Les corpuscules de Negri et le parasite de la rage. (Presse med. 1906.)
Derselbe, Untersuchungen über die Negri'schen Körper und ihre Beziehung zu dem Virus der Wutkrankheit. (Zeitschr. f. Hyg. 1907, Bd. 56.)
Babes u. Stefanescou, Etude comparative sur l'apparition des lésions rabiques et des corp. de Negri. (Comp. rend. de la Soc. Biol. 1908, Vol. 64, p. 81.)
Bandini, Contributo alla conoscenza dei corpi di Negri nella rabbia. (Arch. per le sc. med. 1904, Bd. 15, p. 207.)
Baschieri, Sulla diagnosi rapida etc. (Bull. d. scienze med. A. 77.)
Beck, Der Tollwuterreger des Dr. Negri. (Fortschr. d. Vet.-Hyg. 1903, p. 253.)
Bertarelli, Sui rapporti tra le modific. di virulenca del virus rabico de le modific. dei corpi de Negri. Riv. d'Ig. e san. publ. 1903.)
Derselbe, Über Beziehungen zwischen Virulenzmodifikationen des Wutvirus und Veränderungen der Negri'schen Körper. (C. f. B. Bd. 36, p. 42.)
Derselbe, Die Negri'schen Körper im Nervensystem d. wutkr. Tiere. (C. f. B. 1906, Bd. 37, No. 18—20.)
Bohne, Die Negri'schen Körper und ihre Bedeutung f. d. Diagnose d. Tollwut. (Zeitschr. f. paras. Krankh. u. Hyg. d. Haustiere, Bd. II, Heft 2/3.)
Derselbe, Beitr. z. diagn. Verwertbarkeit d. Negri'schen Körper. (Z. f. H. 1905, Bd. 52.)
Bongiovanni, Die Negri'schen Körper u. die durch fixes Virus verursachte Wutinfekt. mit langsamem Verlauf. (C. f. B. 1906, Bd. 41, p. 343.)
da Costa, Sur la présence de corp. de Negri dans la surrénale du Cobaye rabique. (Bull. de la Soc. Portugaise d. sc. nat. Vol. II.)
Daddi, Sull' eziologia dell' idrofobia. (Rivist. crit. di clin. med. 1903, No. 12.)
Derselbe, Sull' eziologia della rabbia. (Ibid. 1903, No. 22.)
Derselbe, Ricerche della rabbia. (Ibid. 1904, No. 21—22.)
Dammann u. Hasenkamp, Einiges über Tollwut. (Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1908, p. 457.)
Davis, Negri bodies in hydrophobia. (Journ. of the Americ. med. assoc. 1906, T. 47.)
Dominici, Sul valore della diagnosi dalla rabb. (Policlin. sez. prat. 1904, No. 29.)
Ernst, Die Bedeutung der Negri'schen Körper für die Wutdiagnose. (Monatsh. f. prakt. Tierheilkunde 1906, Bd. 17.)
Fasoli, Sulla colorazione dei corpi di Negri nella infezione rabbida. (Policlinico sez. prat. 1904, No. 7.)
Frottingham, The rapid diagnosis of Rabies. (Journ. of med. res. Bd. 14, p. 471.)
Ganslmayer, Über das Vorkommen der Negri'schen Körper in den Speicheldrüsen bei Wut. (C. f. B. 1910, Bd. 55, p. 487.)
van Gieson, Eine sichere und einfache Methode f. Nervensystemstudien, hauptsächl. ihre Verwendung in d. Diagn. u. Unters. d. Negri'schen Körper. (C. f. B. Bd. 43, H. 2.)

Halberstaedter u. Prowazek, Über Zelleinschlüsse parasitärer Natur beim Trachom. (Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt 1907, Bd. 26, S. 36.)
Harris, A method of the staining of Negri bodies. (Journ. of infect. dis. 1908, V. 5 p. 588.)
Heymann, Bericht über die Tätigkeit der Schutzimpfungsabteilung am hyg. Institut d. Universität Breslau. (Klin. Jahrbuch 1909, Bd. 21.)
Derselbe, Über Atoxylbehandlung bei Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. 1908, Bd. 59, p. 362.)
Keysser, Über die Bedeutung und Spezifizität der Lentz'schen Passagewutk. (Zeitschr. f. Hyg. 1910, Bd. 66, p. 262.)
Koch, Studien zur Ätiologie der Tollwut. (Tagung d. Freien Vereinigung f. Mikrobiol., Berlin 1910.)
Derselbe, Studien zur Ätiologie d. Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. 1910, Bd. 66, p. 443.)
Koch u. Rissling, Studien zur Ätiologie d. Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. 1910, Bd. 65, p. 85.)
Kozewaloff, Zur Frage der sog. Passagewutkörperchen von Lentz. (C. f. B. Org. 1909, Bd. 52, p. 6.)
Lentz, Bericht über die Tätigkeit der Wutschutzabteilung am Institut f. Infektionskrankheiten zu Berlin. (Klin. Jahrb. Bd. 20, H. 1.)
Derselbe, Ein Beitrag zur Färbung der Negri'schen Körper. (C. f. B. 1907, Bd. 44, p. 374.)
Derselbe, Die Tollwutdiagnose im Laboratorium. (Deutsche tierärztl. Woch. 1907, No. 8.)
Derselbe, Über spez. Veränderungen an den Ganglienzellen wut- und staupekranker Tiere. (2. Tagung d. Freien Vereinigung f. Mikrobiol., Berlin 1908 und Zeitschr. f. Hyg. 1909, Bd. 62, p. 63.)
Lipschütz, Über mikroskopisch sichtbare, filtrierbare Virusarten. (2. Tagung d. Freien Vereinigung f. Mikrobiol. in Wien 1909.)
Luzzani, La dim. del paras. specif. in un caso di rabb. nell' uomo. (Arch. per la sc. med. 1904, Vol. 28, p. 167.)
Dieselbe, Nachweis d. spez. Parasiten in einem Falle von Tollwut beim Menschen. (C. f. B. 1904, Bd. 36, p. 540.)
Dieselbe, Sulla diagnosi della rabbia. (Arch. per le sc. med. 1904, Vol. 28.)
Dieselbe, Zur Diagnostik der Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. 1905, Bd. 49, Nr. 2.)
Dieselbe, Ulter. ricerche sulla distrub. del paras. spec. nel sistemo nerv. dell' uomo idrofobo. (Lo speriment. 1905.)
Luzzani u. Macchi, Sulla diagnosi della rabbia. (Gazz. med. Ital. 1904, No. 25.)
Maas, Ein Fall von Lyssa hum. (Münch. med. Woch. 1905, No. 3.)
Maresch, Über die feinere Struktur der N. K. (Wiener klin. Woch. 1905, No. 25.)
Marzocchi, Contributo alle questione della specifità dei corpi de Negri. (Arch. per le sc. med. 1904, Bd. 28, No. 6.)
Mazzei, Sulla diagnosi istolog. d. rabb. (Giornale della Reale Soc. Italiana d'Igiene 1908, Nr. 3.)
Derselbe, Ricerca dei corpi di Negri in forma dicimurro simulanti la rabbia nei cani. (Riv. d'Ig. e Sanità Pubbl. 1908, t. XIX, p. 528.)
Derselbe, Sulla resistenza del. vir. rab. alla putrefazione. (La Rif. med. 1906.)
Moschini, Le capsule soprarenali nella infezione rabbica. (Gazz. med. Ital. 1905, No. 38, 39.)
Negri, Contributo allo studio dell eziol. d. rabb. (Soc. med. chir. di Pavia 1903.)
Derselbe, Sull eziologia della rabbia. La diagnosi d. rabb. in base di nuovi reperti. (Ibid. 1903.)
Derselbe, Beitrag zum Studium der Ätiologie der Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. 1903, Bd. 43.)
Derselbe, Zur Ätiologie der Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. 1903, Bd. 44, p. 519.)
Derselbe, Sull' eziologia della rabb. (Boll. della soc. med. chir. di Pavia, 22. I. 1904, vol. I.)
Derselbe, I risult. d. nuove ricerche sull' eziolog. d. rabb. (Lo sperimentale 1904.)
Derselbe, Sull eziolog. d. rabb. Note sulla morf. e sul ciclo evolutivo del parasita specifico. (B. d. soc. m. chir. di Pavia, 30. VI. 1905.)
Derselbe, Sulla morfologia e sull ciclo del parasita d. rabb. (Rend. della R. Accad dei Lincei 1909, XXXVI.)
Derselbe, Über die Morphologie und den Entwicklungszyklus der Parasiten der Tollwut. (Neuroryctes hydrophobiae Calkin's.) (Zeitschr. f. Hyg. 1909, H. 63, p. 421.)

Neri, Le diagnostic rapide de la rage. (C. f. B. Og. 1909, Bd. 50, p. 409.)
Derselbe, Jodoresistenza dei corpi d. N. e suo signific. (Ann. d'Ig. sperim. 1909, Vol. XIX, p. 195.)
Ostermann, Bericht über die Tätigkeit der Wutschutzabtlg. am Hyg. Institut d. Universität Breslau. (Klin. Jahrb. 1907.)
Pace, Sopra alcune formazioni eosinofile simulanti i corpi di Negri nelle cell. dei gangl. cerebrospin. d. uomo idrof. (Rif. med. 1904, No. 25.)
Derselbe, I corpi di Negri nell sistemo nerv. dell' uomo idrofobo. (Atti d. Congr. d. med. int. Padova 1903.)
Derselbe, Parasiten und Pseudoparasiten der Nervenzellen. (Zeitschr. f. Hyg. 1908, Bd. 60, p. 62.)
Pianese, La natura dei corpi di Thoma-Sjöbring nel cancro e dei corpi di Negri. (Gazz. int. di Medic. 1905.)
Pinzani, Über das Vorkommen der Lentz'schen Passagewutkörperchen und ihre Spezifität. (C. f. B. 1909, Bd. 51, p. 522.)
Podwyssotsky, Veränderungen der Glandula submaxill. bei Lyssa. (Ref. im C. f. B. 1909, Bd. 42, p. 458.)
Poor, Pathol. Stud. in Rabbies. (Proc. of the New York path. soc. 1904, Vol. IV.)
Scavonetto-Materazzi, Importanza dei corpi di Negri nella diagnosi pratica d. rabb. (Gazz. d. Osped., vol. 26, No. 133.)
Schiffmann, Zur Kenntnis d. Negri'schen Tollwutkörperchen. (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, p. 199.)
Schüder, Der Negri'sche Erreger der Tollwut. (Deutsche med. Woch. 1903.)
Standfuss, Über die ätiologische u. diagnostische Bedeutung d. Negri'schen Tollwutkörper. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1908, Bd. 34, p. 109.)
Stazzi, Das Negri'sche Körperchen und die Schnelldiagnose der Wut. (La clin. vet. 1904, No. 42.)
Toepfer, Bericht über die Tätigkeit der Wutschutzabteilung d. Inst. f. Infektionskrankh. in Berlin. (Klin. Jahrb. 1907, Bd. 18.)
di Vestea, Di alcune proprieta biolog. dei filtrati rabici etc. (Ann. d'Ig. speriment. 1905.)
Volpino, Sulla diagnosi istolog. della rabbia. (Riv. d'Ig. e. san. publ., tom. 15, p. 20.)
Derselbe, Über die Bedeutung der in den Negri'schen Körpern enthaltenen Innenkörperchen und ihren wahrscheinlichen Entwicklungsgang. (C. f. B., Bd. 37.)
Derselbe, Sulla struttura d. corpusc. contenuti nell' interno dei corpi di Negri. (Riv. d'Ig. e san. publ. 1905, p. 16.)
Derselbe, Sulla strutt. d. corpi descritti d. Negri nella rabbia. (Arch. p. l. sc. med. 1904, t. 28, p. 153.)
Derselbe, Sulla alcune modificazioni che present. i corpusc. contenuti sull interno dei corpi di Negri. (Riv. d'Ig. e san. publ., t. 16, No. 21.)
Derselbe, Sopra alcuni reperti morfol. nelle cellule nerv. di animali affetti da rabb. speriment. (Ibid. 1903.)
Derselbe, Sulla fine struttura dei corpi di Negri nella rabbia. (Gazz. med. ital. 1904, No. 13 und Riv. d' Ig. e san. publ., vol. 15, No. 7.)
Derselbe, Sulla natura dei corpi di Negri e dei corpuscoli entro essi contenuti. (Arch. per le scienze med. 1907, Bd. 31, p. 469.)
Volpius, Über die histolog. Diagnose der Wut. (Zeitschr. f. Hyg. 1910, Bd. 65, p. 113.)
Way, The Negri bodies and the diagnosis of rabies. (Amer. Veter. Rev. 1905, Vol. 29.)
Williams, Negri bodi with spec. refer. to diagnosis. (Proc. of the N. Y. path. Soc. 1905.)
Williams and Lowden, The etiology and diagnosis of hydrophobia. (The Journ. of inf. diseas. 1906, vol. 3, No. 3.)
Zaccaria, Sulla presenza e distribuzione dei corpi di Negri in un caso di rabb. umana. (Ann. d'Ig. sperim. 1905, t. 15.)

Verzeichnisse der übrigen einschlägigen Literatur finden sich:

Hoegyes, Lyssa, Nothnagel's Handbuch.
Marx und Frosch, Handbuch der pathog. Mikroorganismen Kolle-Wassermann.
Marie, L'étude expérimentale de la rage (Encyclopédie scientifique, Paris 1909.)

Molluscum contagiosum.

Von

B. Lipschütz (Wien).

1. Historisches über die Erforschung der Ätiologie des *Molluscum contagiosum* und über den Erreger.

Als selbständige Hautneubildung wurde das *Molluscum contagiosum* 1817 von BATEMAN erkannt. Von diesem Autor rührt auch der Name her, der am meisten Eingang gefunden hat, obwohl wie NEISSER ausführt, noch zwanzig andere Synonima in der Literatur gebraucht werden. Die Untersuchungen von RETZIUS (1871) und VIDAL (1878) brachten dann den sicheren Nachweis für die Übertragbarkeit des *Molluscum contagiosum* und hierdurch auch die Anregung für die mikroskopische Erforschung dieser infektiösen Hautneubildung.

Der kontagiöse Charakter des *Molluscum contagiosum* wurde bereits noch bevor das Impfexperiment seine Übertragbarkeit demonstriert hatte von älteren Autoren erschlossen, die feststellten, daß in Schulen oder in geschlossenen Kreisen, Instituten usw. falls ein Kind Mollusca aufwies, nach einiger Zeit dieselbe Erkrankung, oft in viel größerer Zahl, bei zahlreichen anderen Kindern auftrat. BATEMAN (1817) berichtete über Ansteckungen zwischen Ammen und Säuglingen, sowie von einzelnen Familienmitgliedern untereinander; CAILLAULT (1851) sah in einem Kinderkrankensaal bei 14 von 30 vorher speziell untersuchten Kindern Mollusca auftreten, nachdem ein mit dieser Affektion behaftetes Kind in das Zimmer gelegt worden war; BARNES (1878) beschrieb das Auftreten von Mollusca auf der Brust der Mutter und im Gesicht des Säuglings; CHARLES W. ALLEN und MITTENDORF (1886) berichteten über Schulendemien, nachdem die Krankheit eingeschleppt worden war.

Entschiedene Anhänger der Kontagiositätslehre dieser Hautaffektion waren ferner, meist auf eigene klinische Beobachtungen gestützt, BESNIER, HUTCHINSON, LIVEING, DEVERGIE, CASPARY, DUBOIS-HAVENITH, MAJOCCHI, MACKENZIE, PICK, LINDSTRÖM u. a., ferner von Pathologen VIRCHOW und RINDFLEISCH. Indessen wurde in früheren Jahren, vor der experimentellen Erzeugung des *Molluscum contagiosum*, die Übertragbarkeit auch energisch bestritten, namentlich von den Begründern der Wiener dermatologischen Schule FERDINAND HEBRA und KAPOSI, des weiteren auch von HANS HEBRA, GEBER, DUHRING, T. C. FOX und G. FOX. Im Jahre 1877 schrieb KAPOSI: „Es ist weder kasuistisch noch experimentell die Übertragbarkeit der Molluscumwarzen dargetan worden. Deshalb halte ich dieselben auch für nicht ansteckend und ihren Beinamen „contagiosum" für nicht gerechtfertigt" und noch 1892 zweifelte KAPOSI

an der Richtigkeit der von ihm selbst gemachten Beobachtung (sowohl in seiner Familie als auch auf der Klinik) des Auftretens zahlreicher *Mollusca contagiosa* und ist nicht geneigt aus solchen Wahrnehmungen bindende Schlußfolgerungen zu machen.

Die experimentelle Übertragung des Molluscum contagiosum scheint zuerst Retzius 1871 gelungen zu sein. Vidal konnte 1878 über positive Inokulationsergebnisse berichten und 1888 teilte Haab einen Impfversuch mit, den er an sich selbst angestellt hatte. F. J. Pick waren mehrfache zu verschiedenen Zeiten angestellte Übertragungsversuche des *Molluscum contagiosum* mißglückt; 1892 konnte er jedoch über zweifellos positive Inokulationsversuche berichten; mit der Lupe konnte man bereits in der zehnten Woche nach der Impfung an der einen Impfstelle ein typisches Molluscum nachweisen.

Neumann, Arning und Caspary schlossen sich Pick an, nur Kaposi glaubte noch immer gewisse Zweifel nicht ganz bannen zu können.

Schließlich teilten auch Nobl (1895) und Diliberto (1896) positive Impfergebnisse mit.

Die auf Grund klinischer Erfahrungen, hauptsächlich aber durch die gelungenen Impfversuche sicher begründete Kontagiositätslehre des *Molluscum contagiosum* hatte den schon früher begonnenen Forschungen nach dem Erreger einen neuen Antrieb gegeben und gewissen bereits festgestellten Befunden zu scheinbarem Erfolg verholfen.

Nachdem Angelucci (1881) als Ursache des *Molluscum contagiosum* ein *Bakterium lepogenum* (von λέπος = Schuppe) beschrieben hatte, ein Befund, der von Oskar Simon, Unna, Vidal und Kaposi entschieden bestritten wurde, war es Neisser, der in unermüdlicher Weise in einer Reihe von Arbeiten und mit Heranziehung zahlreicher histologischer Methoden den Beweis zu erbringen versuchte, daß der Erreger des *Molluscum contagiosum* nicht unter den Bakterien zu suchen sei, sondern daß es sich um einen, wahrscheinlich den Gregarinen angehörenden Parasiten handelt. 1882 hatte Neisser die von Patterson und Henderson entdeckten „Molluscumkörperchen" als Parasiten angesprochen, 1888 modifizierte er seine Ansicht dahin, daß nur die in den Molluscumkörperchen zu findenden, als „Sporen" gedeuteten Körperchen den Erreger darstellen und daß erstere nur die Träger des Virus sind. Der Parasit gehörte nunmehr, wie dies auch von Bollinger ausgesprochen wurde, zu den Coccidien. All diesen ausgedehnten Untersuchungen Neisser's kommt heute bloß historisches Interesse zu.

Nachdem die „Coccidientheorie" sich als unhaltbar erwiesen hatte, war ein gewisser Stillstand eingetreten und nur einzelne Arbeiten beschäftigten sich mit der ätiologischen Erforschung des *Molluscum contagiosum.* Galli-Valerio beschreibt Gebilde, die er als Blastomyceten deuten möchte; Herzog findet Staphylokokken im Ausführungsgang und glaubt zur Annahme berechtigt zu sein, eine Kausalitätsbeziehung zwischen der Kokkenansiedlung und dem Wucherungsprozeß in den tiefen Zellschichten festzustellen; nach Serra dürfte der Erreger des *Molluscum contagiosum* zu den Protozoen gehören und Walter Pick beschreibt bei Dunkelfeldbeleuchtung beobachtete kreisrunde, lebhaft bewegliche Gebilde, die sich oft zu zweien und dreien gruppieren und sich im gefärbten Präparat als Kokken erweisen. Den Molluscumzellen schreibt Pick phagocytäre Eigenschaften zu. Der Vollständigkeit halber seien auch die Angaben von Benda und Bosc erwähnt, welche im Zellprotoplasma kleine Körperchen beobachtet hatten, jedoch ihre Bedeutung für die Genese des Molluscum nicht sicher feststellen konnten. Schließlich sei auch auf die Untersuchungen Casagrandi's verwiesen, der im Molluscumfiltrat lebhaft bewegliche, längliche oder birnförmige Körperchen beschreibt.

Einen wesentlichen Fortschritt in der bereits auf einem toten Punkt angelangten

ätiologischen Erforschung des Molluscum bedeutete die Feststellung JULIUSBERG's (1905), daß das Molluscumvirus bakteriendichte Filter passiere. Durch diese Tatsache waren alle früheren Angaben über den Molluscumerreger über den Haufen geworfen. Nach der vor wenigen Jahren noch vorherrschenden Anschauung mußte aber das filtrierbare Virus des *Molluscum contagiosum* den „unsichtbaren“ Infektionserregern zugezählt werden, als welcher es auch von REMLINGER in seiner Zusammenstellung „les microbes filtrants“ angeführt wird. Durch die Untersuchungen von LIPSCHÜTZ (1907) konnte schließlich ein für das *Molluscum contagiosum* typischer Befund festgestellt werden, dessen Richtigkeit von v. PROVAZEK (1907), HARTMANN (nach einer persönlichen Mitteilung) und SCHERBER (1909) nachgewiesen worden ist.

2. Die Klinik des *Molluscum contagiosum.*

Eine vorzügliche Beschreibung des klinischen Entstehens des *Molluscum contagiosum* gibt TÖRÖK; hier findet sich auch eine genaue Erklärung der Genese des im Centrum des Molluscum befindlichen nabelartigen Grübchens. Auf die klare Darstellung TÖRÖK's sei hiermit besonders verwiesen.

Von Interesse sind die durch ganz besondere Größe und Zahl ausgezeichneten Mollusca. KAPOSI, LINDSTRÖM, VIDAL, LUTZ, LAACHE und EBERT beschreiben Fälle von *Molluscum contagiosum,* die fast am ganzen Körper verbreitet waren. ZEISSL, NEUMANN und KAPOSI wollen ferner akutes Auftreten von Hunderten von Mollusca namentlich bei Patienten des Wasserbettes und nach starkem Schwitzen beobachtet haben. Auffallend große Mollusca wurden von KAPOSI als *Molluscum contagiosum giganteum* bezeichnet.

3. Wesen und Biologie des Erregers.

Nach den Untersuchungen von LIPSCHÜTZ sind kleinste, etwa ¼ μ große, rundliche Körperchen, die in enormen Mengen das Molluscum durchsetzen, Träger des Virus. Sie sind sehr wenig lichtbrechend, daher eignet sich für das Studium nativer Präparate die Dunkelfeldbeleuchtung; sie erscheinen dann in Form rein weißer, rundlich-kugeliger, unbeweglicher Körperchen. Geißel oder Membran sind an ihnen nicht wahrzunehmen. Für die Herstellung gefärbter Präparate ist folgende Technik zu empfehlen: entweder Anfertigen von Tupfpräparaten (sog. Klatschpräparate) oder man verreibt ein kleines Fragment des Molluscum mit einigen Tropfen destillierten Wassers, um mit der derart gewonnenen Emulsion nach Art der Anfertigung der Blutausstriche Präparate für die Färbung zu gewinnen. Die Fixation erfolgt in Alkohol abs. oder in Alkoholäther oder in Osmiumdämpfen. Die Körperchen färben sich vorzüglich nach LÖFFLER's Geißelfärbungsmethode und nach GIEMSA, wobei sie leuchtend dunkelrot, bzw. rötlich violett erscheinen (Fig. 1 u. 2). Auch mit ZIEHL'schem Fuchsin lassen sie sich färben, mit Carbolgentianaviolett und alkoholischer Gentianaviolettlösung sind sie schwer darstellbar. Die Färbung nach GRAM ist mir nicht gelungen.

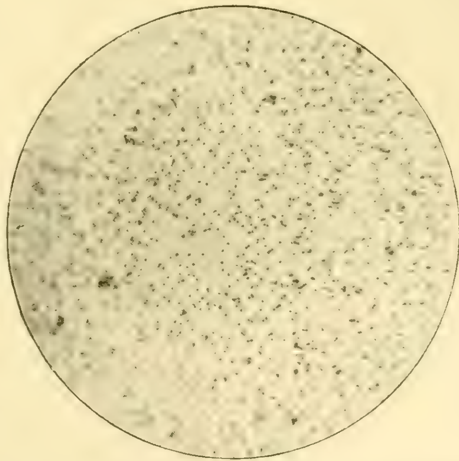


Fig. 1. Mikrophotogramm. Ausstrich von *Molluscum contagiosum.* LÖFFLER's Geißelfärbung.

Die Vermehrung des Virus erfolgt durch Teilung und zwar durch eine Art hantelförmiger Zerschnürung, so daß man neben Diploformen auch solche findet, bei welchen die zwei Körperchen bereits voneinander gewichen sind, offenbar aber noch zusammengehören, indem sie durch eine sehr zarte, schwach gefärbte, fadenförmige Brücke miteinander verbunden erscheinen.

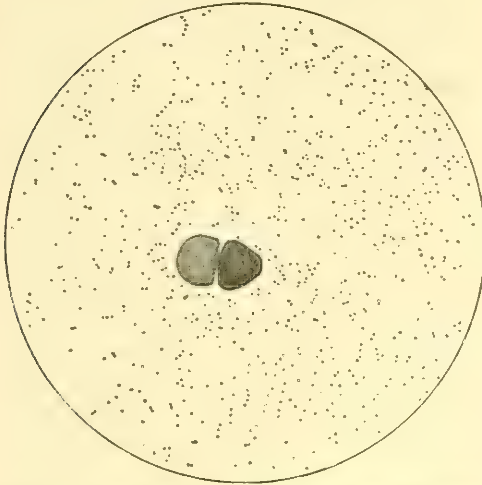


Fig. 2. Ausstrich von *Molluscum contagiosum*. Zwei „Molluscumkörper“ und zahlreiche Elementarkörperchen.

Züchtungsversuche des Virus, die von mir vorgenommen wurden, sind bisher nicht geglückt. Es wurden dabei die verschiedensten Nährmethoden benutzt, darunter auch der von Bordet für die Züchtung des Virus der Geflügeldiphtherie empfohlene Blutagar. Auch auf etwaiges unsichtbares Wachstum wurde geachtet, ohne zu einem positiven Ergebnis zu gelangen.

Die Infektion erfolgt höchstwahrscheinlich durch direkte Übertragung des Virus und Einimpfung desselben in kleinste Epithelabschürfungen. Von der Beobachtung ausgehend, daß man bei mit Mollusca behafteten Personen sehr häufig Pediculi capitis oder Phthirii pubis findet, meinen Ehrmann und Fick, daß möglicherweise diese die Zwischenträger des Virus abgeben. Die Haftung des Virus scheint fast auf jeder Stelle der Hautdecke erfolgen zu können; so habe ich beispielsweise vereinzelte Mollusca auch an selteneren Stellen (Ellbogen, Fußrücken, auf der kahlen Kopfhaut) beobachtet. Als Prädilektionsstellen kommen vor allem die Gesichtshaut, Hals und vordere Begrenzung des Schultergürtels, sowie das Genitale in Betracht.

Das Virus des *Molluscum contagiosum* ist ein ausschließlich epidermales Virus, welches beim Eindringen in die Haut eine Wucherung des Rete Malpighii auslöst. Die Körperchen liegen ausschließlich innerhalb der erkrankten, geblähten Retezellen, so daß der Einwand Nobl's, daß es „unwahrscheinlich sei, daß extracelluläre Schmarotzer den exquisiten endocellulären Degenerationsvorgang bedingen sollen“, durchaus nicht berechtigt ist. Im Corium werden durch das Molluscumvirus keine Veränderungen hervorgerufen, die Basalzellenschicht ist daher stets die Scheidewand zwischen Organismus und Infektionserreger. Obwohl das Virus ausschließlich in der Epidermis sich weiter entwickeln kann, müssen wir es von den dermotropen Erregern trennen, welche von innen her, auf dem Wege der Blutbahn der Haut zugeführt werden, um ausschließlich in diesem Organ pathologische Veränderungen zu veranlassen (siehe Abschnitt über Dermotropismus, Anhang zu „Chlamydozoen-Strongyloplasmen“).

Die biologische Wirkung des Molluscumvirus auf die Haut ist spezifisch und von der Wirkung pyogener oder plasmomerzeugender Mikroorganismen streng zu trennen. Bemerkenswert ist die Toleranz des befallenen Gewebes gegenüber dem Infektionserreger, indem die befallenen Zellen zwar schwere Schädigungen erleiden, aber trotz ungeheurer Durchsetzung mit Virus nicht zugrunde gehen und sogar bis zu einem gewissen Grad ihre Integrität bewahren.

Von Interesse ist der Einfluß der pyogenen Kokken auf den Bestand des Mol-

luscum; kommt es nämlich zu einer auch nur mäßigen Eiterung in oder rings um das Molluscum, so fällt es häufig ab, wodurch spontane Heilung sich einstellt.

Die Inkubation läßt sich in spontan entstandenen Mollusca nur schwer genau feststellen. In experimentellen Versuchen beobachtete Vidal eine Inkubationsdauer von drei bis sechs Monaten, Haab eine solche von einem halben Jahr, während Pick schon nach 10 Wochen und Nobl sogar nach 7 Wochen mit der Lupe den Beginn des Molluscum feststellen konnten.

Auffallend ist die schwere Haftbarkeit des Virus; welche Momente zusammenwirken müssen, um die Haftung des Virus zu ermöglichen, entzieht sich derzeit unserem Wissen. Vielleicht kommen Virulenzunterschiede in Betracht oder individuelle Momente, je nachdem die Impfung auf den Träger oder auf eine zweite Person ausgeführt wird und des weiteren spielt wahrscheinlich auch das Alter der Versuchsperson eine Rolle, indem bei Kindern das Molluscumvirus leichter zu haften scheint. Successivimpfungen mit Molluscum sind möglich, wie ich dies einer persönlichen Mitteilung Brocqs entnehme; ich habe jedoch in dreimal wiederholten Selbstversuchen bloß negative Resultate erzielt.

De Blasi fand das Molluscumvirus nicht filtrierbar (1904). Nach den Untersuchungen Juliusberg's (1905) ist das Molluscumvirus durchgängig und zwar passierte es eine Chamberlandkerze. Bei der mit Filtrat vorgenommenen Impfung gingen nach 50 Tagen Mollusca an, die sich allmählich immer weiter entwickelten. Das Virus haftete bloß bei einer von drei gleichzeitig geimpften Personen. Nach bisher nicht publizierten, mir freundlichst von Herrn Dr. Lewandowsky mitgeteilten Versuchen gelang es später auch Impfmollusca zweiter Generation mit Filtraten zu erzeugen. In einem derartigen Filtratmolluscum konnte Referent den typischen mikroskopischen Befund feststellen. — Die Filtrationsversuche Juliusberg's sind in letzter Zeit von Serra bestätigt worden.

Das *Molluscum contagiosum* ist auf Versuchstiere nicht übertragbar. Die älteren Untersuchungen Ebert's bei Hunden, die Versuche Hofmann's bei niederen Affen, jene Salmon's bei anthropoiden Affen (nach einer persönlichen Mitteilung) und eigene Übertragungsversuche auf die Haut von Tauben und auf die Kaninchencornea sind sämtlich negativ ausgefallen. Nur Campana und Sabella glauben positive Ergebnisse bei der Implantation in die vordere Augenkammer von Kaninchen erzielt zu haben. Die Untersuchungen Sabella's konnten vom Referenten nicht bestätigt werden; es kommt vielmehr zum Schwinden des eingebrachten Materials und nur an einzelnen Stellen des entstandenen Infiltrats findet man noch Reste von Molluscumkörperchen von Riesenzellen aufgenommen, nirgends aber das typische histologische Bild des Molluscum contagiosum oder die für diese Affektion spezifischen „Elementarkörperchen".

4. Histologie des *Molluscum contagiosum*, die „Molluscumkörperchen" und ihre Bedeutung.

Die Tatsache, daß das *Molluscum contagiosum* die einzige sicher parasitäre Hautaffektion ectodermalen Ursprunges darstellt, erklärt das besondere Interesse, das in früheren Jahren der Histologie dieser Affektion entgegengebracht wurde; glaubte man doch aus den Befunden beim Molluscum Anhaltspunkte für die Erforschung der krebsartigen Geschwülste zu gewinnen.

Neisser erklärte jedoch ausdrücklich, daß außer dem rein histologischen Bau keine Verwandtschaft zwischen Molluscum und echtem Carcinom besteht. Auch in dieser Form lassen sich die Beziehungen des Molluscum zum Carcinom nicht aufrecht erhalten, da bei ersterem eine kaum nennenswerte pathologische Wucherung vorliegt,

das Wachstum des Tumors vielmehr in der enormen Größenzunahme der einzelnen Zellen seine Hauptursache findet (Benda).

Von Neisser wurde die Anschauung Kaposi's bekämpft, welche das Molluscum aus einer Wucherung von Talgdrüsen ableitete, die „Molluscumkörper" als ein Umwandlungsprodukt des Protoplasmas betrachtete und sie als fürs Molluscum nicht spezifisch bezeichnete. Auch Israel, Seldowitsch und Omeltschenko führen die Entstehung des Molluscum auf Veränderungen der Talgdrüsen zurück. Mit Neisser lehnen wir heute auf Grund der histologischen Untersuchungen der meisten Autoren die Lehre Kaposi's ab, wenn auch in seltenen Ausnahmsfällen eine follikuläre Lokalisation des Molluscum nicht geleugnet werden soll (Israel).

Bei eben beginnenden, nur mikroskopisch sichtbaren Mollusca fand Neisser weder eine Beteiligung des Follikels, noch die zentral gelegene Delle und Öffnung, noch, trotz bereits deutlicher Epithelveränderungen, „Molluscumkörperchen". Man findet vielmehr nicht einen, sondern mehrere, nebeneinander befindliche Epithelbezirke in Wucherung geraten, die Zapfen wachsen erst seitlich, später in die Tiefe, in das Bindegewebe hinein und die Molluscummasse setzt sich aus ebensovielen Läppchen zusammen, als Epithelbezirke in Wucherung sich befinden.

Bei der Untersuchung eines wohl ausgebildeten Molluscum findet man nach Neisser, Jarisch u. a. folgendes typische Verhalten: In der Epithelwucherung, welche als kolbige Masse ins Bindegewebe hineinragt, findet man die Basalzellenschicht und die darüber befindlichen Schichten — eine oder zwei — normal. Die nächste Zellschicht zeigt bereits Veränderungen, namentlich bei gewissen Fixationsmethoden (Alkohol) ist daselbst das Auftreten einer feinen, körnigen Trübung im Protoplasma, meist in der Nähe des Kernes, zu sehen. In der nächst höheren Schicht haben die Zellen in der Regel die Faserung verloren, die Zelle ist vergrößert, gebläht, der Kern wird immer mehr durch eine im Protoplasma an Umfang zunehmende Masse aus seiner ursprünglichen centralen Lage an die Peripherie der Zelle gedrängt, so daß er oft nur in Form einer schmalen, am Durchschnitt halbmondartig konturierten Scheibe zu sehen ist. Die im Protoplasma wachsende Substanz wurde von Neisser als eine feinkörnige Masse beschrieben, die aus kleinsten, dicht nebeneinander gelagerten hellen Körperchen zusammengesetzt ist. In Alkoholpräparaten erschien die Masse mit dunklen Punkten, in Form kurzer, stäbchenartiger, länglicher Gebilde durchsetzt. Als weitere Entwicklung wurde von Neisser das Zusammentreten der kleinen Kügelchen zu Einzelhäufchen, die sich in Form abgegrenzter, heller, glänzender Körper von runder, ovaler oder länglicher Form präsentieren, angenommen. Er nannte diese Körper, die etwa 6 bis 8 an der Zahl betrugen und durch eine Art Balkennetz getrennt waren, „Sporen" und glaubte damit den Höhepunkt in der Entwicklung der vermeintlichen Parasiten beobachtet zu haben. Nun setzen regressive Veränderungen ein; durch eine rasch fortschreitende Verhornung wird die Zelle kleiner, undurchsichtiger, so daß der „Sporeninhalt" fast ganz verdeckt erscheint: die Zelle ist zum „Molluscumkörper" geworden. Diese liegen in großer Zahl dicht nebeneinander, nur durch eine eleidinartige Masse, die eine Art Stützgerüst bildet, voneinander getrennt, in dem der centralen Delle am nächsten gelegenen Bezirk des Molluscum.

Bemerkenswert ist — wie bereits von L. Pfeiffer und Neisser hervorgehoben wird, —, daß nicht alle Zellen die beschriebene Metamorphose durchmachen; ein Teil der Zellen wird nicht befallen, wird jedoch von den geblähten Nachbarzellen stark komprimiert, so daß in den ganz schmalen Protoplasmazonen oft nur die Kerne noch deutlich sichtbar sind.

Wie bereits erwähnt, faßte Neisser ursprünglich die „Molluscumkörperchen" als Parasiten auf, später bloß die in ersterem enthaltenen „Sporen", die er zu den Coccidien rechnet.

Maßgebend für die Neisser'sche Auffassung waren der von Virchow gemachte Verweis der auffallenden Ähnlichkeit der „Molluscumkörper“ mit den im Darm und in den Visceralorganen der Kaninchen vorkommenden Gregarinen sowie die Untersuchungen Bollinger's, die Gregarinen als die Ursache des Molluscum erkannt hatten.

Bezüglich der Virchow'schen Angaben sei jedoch bemerkt, daß Virchow zwar zuerst auf die Ähnlichkeit der „Molluscumkörper“ mit Coccidien der Kaninchenleber hingewiesen hat, jedoch in einer ausführlichen späteren Publikation schreibt, daß er „nichts wahrgenommen habe, was auf einen solchen (parasitären) Ursprung hinweise“.

Die Coccidientheorie der Molluscumkörperchen von Bollinger-Neisser hatte das Entstehen einer großen Literatur zur Folge und fand einerseits Vertreter in Touton, Rivolta, Darier, Ziegler, andererseits Gegner in Hansemann, O. Israel, Kromayer, Macallum, Török und Tommasoli, Unna, Caspary, Kuznitzky, Blaschko, Audry, Mütze, Beck, Benda u. a., welche die parasitäre Theorie der Molluscumkörper ablehnten und die einer eigenartigen Degeneration der Epithelzellen vertraten. Lubarsch schreibt: „Es kann keinen Zweifel unterliegen, daß die Beurteilung der in den Epithelien liegenden Körper eine sehr schwierige ist.“ Im Epithelüberzug verschiedener Warzen, in papillären Epithelverdickungen, in der Umgebung von Carcinomen und in Excrescenzen der Stimmbänder fand Lubarsch dieselbe feine, immer deutlicher werdende Körnelung des Protoplasmas der Epithelzellen, wie sie Neisser und Touton schildern und als Jugendstadien der Parasiten betrachten. Lubarsch nimmt daher Neisser gegenüber einen ablehnenden Standpunkt ein.

Im Neisser'schen Sinne äußerte sich nur noch Winogradow, der ebenfalls die in den Epithelzellen zu beobachtenden Körperchen als Parasiten auffaßt. Nach Winogradow sehen zwar die „Molluscumkörperchen“ verhornten Zellen nicht unähnlich und sollen von den Reaktionen mit der Hornsubstanz die Quellung in 30% Kalilauge gemein haben; mit Farben reagieren sie anders als verhornte Massen: nach Hämatoxylin-Pikrinsäurefärbung erscheinen letztere gelb, die „Molluscumkörper“ hingegen tief violett; nach Biondi-Heidenhain sollen die reifen Formen rot, die jungen grün erscheinen, während verhornte Massen das Orange aufnehmen; Winogradow rechnet die Parasiten des *Molluscum contagiosum* zu den Microsporidien.

War auch die parasitäre Theorie der „Molluscumkörperchen“ immer mehr verlassen worden, so konnten die Anhänger der Degenerationshypothese über die Art der supponierten Veränderung zu keinem eindeutigen Ergebnis gelangen, so daß, wie Neisser schreibt, die einen sie als colloide, die anderen als hyaline oder hornartige Degeneration bezeichnen. Der Vollständigkeit halber, sei auch die Ableitung der Genese der Molluscumkörperchen von Leucocyten erwähnt, die bloß in der Arbeit Lukomskys zum Ausdruck gelangt.

Durch die Unterschungen des Referenten wurde nicht nur eine schärfere Formulierung der Frage der Ätiologie des *Molluscum contagiosum* erbracht, sondern auch eine einwandfreie histologische Darstellung des Virus geliefert. Schließlich konnte auch zur Frage der „Molluscumkörper“ und ihrer Bedeutung Stellung genommen werden (siehe Tafel V obere Reihe, Fig. 1—4).

Im Gegensatz zu den meisten Autoren, die in ihren Arbeiten hauptsächlich den „Molluscumkörpern“ Interesse zuwendeten, schien Referenten das Studium der tiefer gelegenen, geblähten, das Virus beherbergenden Retezellen von Bedeutung zu sein.

In nach der feuchten Giemsamethode (nach Sublimatalkoholfixation) behandelten Schnitten ist das Protoplasma der erkrankten Retezellen fast ganz von den „Elementarkörperchen“ des Molluscum erfüllt; in einer kaum oder schwach rötlich gefärbten Grundsubstanz eingebettet, liegen sie tief dunkelrot gefärbt, in einzelnen kompakten Haufen, die voneinander bloß durch helle (freie) Räume getrennt sind. Der verkümmerte Kern ist vollkommen an die Peripherie verdrängt und sitzt oft

kappenartig der roten Körperchenmasse auf. Die Zellmembran ist deutlich erhalten; die Elementarkörperchen sind ausschließlich intracellulär gelegen und weisen keinerlei Einhüllungsprodukte auf, so daß die Körperchen gewissermaßen nackt liegen (siehe Tafel).

Nach Pappenheimfärbung sind die Veränderungen im Cytoplasma deutlich schon in den tieferen Retezellen nachzuweisen. Neben dem Kern auftretend und ihn immer mehr verdrängend, entwickelt sich eine bläulich gefärbte, wolkenartig verschwommene Masse, die in den höheren Zellagen an Umfang zunimmt, um fast die ganze Zelle einzunehmen. In Giemsa-Schnitten läßt sich an Stelle dieser bläulichen, homogenen Masse die Auflösung in eine außerordentlich große Anzahl distinkt gefärbter Elementarkörperchen feststellen, so daß beide Färbungsmethoden einander wohl ergänzen.

Ein interessantes histologisches Detail, das regelmäßig sowohl nach Pappenheim als auch nach Giemsa in den geblähten, infizierten Retezellen nachweisbar ist, besteht im Auftreten größerer und kleinerer, unregelmäßig gestalteter, plumper, stäbchenförmiger oder kugeliger Gebilde, die regellos im Cytoplasma zerstreut sind und die zu den allerersten Zellveränderungen bei Molluscum contagiosum gehören. Ob sie ins Cytoplasma ausgetretene Kernsubstanzen darstellen, konnte nicht sicher entschieden werden. Für diese Auffassung würde sowohl ihr tinktorielles Verhalten (pyroninrot, nach Giemsa blau gefärbt) sprechen, als auch die Tatsache, daß bereits von Kuznitzky und Maccallum auf bedeutende Kernalterationen hingewiesen worden ist. Nach ersterem Autor soll der Kern nicht nur die allerersten Veränderungen überhaupt aufweisen, sondern schließlich vollständig in der Protoplasmamischung aufgehen. Der Lagerung zum Kern kann hingegen keine ausschlaggebende Bedeutung beigelegt werden, da die Gebilde regellos zerstreut gelegen sind. Möglich wäre auch ihre Abstammung von bereits normalerweise im Cytoplasma vorkommenden plastinartigen Stoffen, wie solche durch neue Untersuchungen nachgewiesen worden sind.

Es ist sehr naheliegend die beschriebenen plastinartigen Substanzen im Cytoplasma der infizierten Retezellen als unter dem Einfluß des Molluscumvirus aufgetretene Reaktionsprodukte der Zelle zu deuten, da wir auch bei anderen durch Strongyloplasmen (Chlamydozoen) hervorgerufenen Krankheiten ähnlichen Prozessen begegnen (Benda'sche Körperchen bei der Taubenpocke oder Aufbau des Guarnieri'schen Körperchens aus einer Chromatin- und Plastinkomponente).

Ueber das weitere Schicksal der beschriebenen Reaktionsprodukte läßt sich nichts Sicheres aussagen; sie gehen möglicherweise später durch Verflüssigung zugrunde.

Es ist nicht ohne Interesse festzustellen, daß sowohl die erwähnten Plastinsubstanzen als auch die neben dem Kern (in Pappenheim-Präparaten) deutlich nachweisbare „Masse" bereits von Neisser ausführliche Schilderung gefunden haben; letztere wurde als der zu den Coccidien gehörende Parasit des Molluscum, erstere als weitere Entwicklungsform des Erregers angesehen.

Die „Molluscumkörper" (Henderson und Paterson), die nativ und in gefärbten Präparaten als große, rundliche oder ovoide mit glatten, scharfen Konturen versehene Gebilde erscheinen, sind mit den meisten Kernfarbstoffen darstellbar und zeigen ein gleichmäßig homogenes Aussehen, nur die peripherste Zone scheint manchmal etwas dichter zu sein.

Nach Blaschko zeigen die „Molluscumkörper" die Reaktionen des Hyalins, sie quellen in 30% Kalilauge auf (Winogradow), mit Jodtinktur färben sie sich mäßig gelbbraun bis braun, nach Zusatz von Schwefelsäure erleiden sie jedoch keine weitere Veränderung, Salpetersäure färbt sie gelbgrün. Nach Török und Tommasoli werden die Molluscumkörper von konzentrierten Säuren, von Kalilauge und Ammoniak gar

nicht oder kaum alteriert; höchstens schwellen sie ein wenig an und werden blässer. Bei der künstlichen Verdauung (in Pepsinsalzsäure) erweisen sie sich sehr resistent (Török und Tommasoli). Mit Osmiumsäure geben sie Fettreaktion, in Alkohol und Äther sind sie unlößlich.

Nach Gram nehmen die vollkommen entwickelten Molluscumkörper die Farbe an. Nach Giemsa färben sie sich tief dunkelblau und behalten diesen Farbenton selbst nach stärkerer Differenzierung mit Essigsäure. An einzelnen tiefer gelegenen, jedoch wohl ausgebildeten Molluscumkörpern konnten bei der Giemsa-Färbung in der einen Hälfte mehr oder weniger deutlich das Vorhandensein der Elementarkörperchen nachgewiesen werden, während die andere Hälfte eine vollkommen homogene Beschaffenheit angenommen hatte. Entsprechend der bei Lyssa, Hühnerpest, Geflügelpocke usw. nachgewiesenen gesetzmäßigen Lokalisation der charakteristischen „Einschlüsse" (Negri'sche Körperchen, Pockenkörperchen usw.) auf bestimmte, umschriebene Anteile des erkrankten Gewebes, deutet Referent die beim Molluscum bloß in der oberen Schicht auftretenden, ausgebildeten „Molluscumkörper" als unmittelbar in den infizierten Zellen des Stratum lucidum und corneum entstandene charakteristische Degenerationsprodukte; im Gegensatz zu der bisherigen Anschauung werden sie also nicht von in der Tiefe des Molluscum nachweisbaren Zellalterationen abgeleitet. Mit Paltauf, v. Prowazek, Hartmann, Borrel sind die „Molluscumkörper" als charakteristische Reaktionsprodukte auf das spezifische Virus aufzufassen und den Guarnieri'schen, Negri'schen Körpern usw. an die Seite zu stellen.

Als sehr wahrscheinlich kann eine keratinartige Degeneration für die Entstehung der „Molluscumkörper" verantwortlich gemacht werden; für diese Annahme sprechen ihr Verhalten zur Gram'schen Färbung und ihre bedeutende Resistenz sowohl gegenüber Säuren und Alkalien als auch bei der künstlichen Verdauung.

5. Immunität.

Tatsachen, die für das Auftreten von Immunitätsvorgängen gedeutet werden könnten, sind bisher beim *Molluscum contagiosum* nicht bekannt. Daß Successivimpfungen möglich sind wurde bereits erwähnt. Auch ist das Auftreten zahlreicher Mollusca nach mechanischen Irritationen (Abreiben mit Sandseifen usw.) bereits bestehender des öfteren beobachtet worden. Das kindliche und jugendliche Alter ist für die Infektion mit Molluscumvirus leicht empfänglich, aber auch in der zweiten Lebenshälfte kommt es nicht zur Ausbildung einer Immunität.

6. Nomenklatur.

Die Elementarkörperchen des *Molluscum contagiosum* gehören in die Gruppe der Strongyloplasmen (Lipschütz) oder, mit Rücksicht auf das Vorkommen von Einschlüssen, in die der Chlamydozoa (v. Prowazek). Für den Erreger des *Molluscum contagiosum* schlage ich den Namen *Strongyloplasma hominis* vor.

Literatur.

Angelucci, Über die parasitäre Natur des Molluscum contagiosum. Internat. medic. Kongreß 1881, refer. im Arch. f. Dermat. 1882.

Barnes, Refer. im Arch. f. Dermat. 1879.

Bateman, Delineations of skin-dis. London 1817.

Beck, C., Beiträge zur Kenntnis des Molluscum contagiosum. Arch. f. Dermat. 1896. Bd. 37.

Benda, Untersuchungen über die Elemente des Molluscum contagiosum. Dermatol. Zeitschrift 1895.
Bizzozero und Manfredi, Refer. im Archiv für Dermat. 1871. S. 599.
Blaschko, Ref. Arch. f. Derm. 1889.
de Blasi, Contributo alla conoscenza dei virus filtrabili. Roma 1904.
Boeck, Cäsar, Über Molluscum contagiosum und die sog. „Molluscumkörper". Arch. f. Derm. 1875.
Bollinger, Über Epithelioma contagiosum beim Haushuhn und die sog. Pocken der Geflügel. Virchow's Archiv. Bd. 58. Heft 4.
Derselbe, Über die Ursache des Molluscum contagiosum. Bericht der Naturforscherversammlung 1878, ref. im Arch. f. Dermat. 1879.
Bordet und Gengou, le microbe de la coqueluche. Annal. de l'Inst. Past. 1906.
Bosc, Compt. rend. de la Soc. de Biol. Paris 1905.
Caillault, Recherches sur deux variétés assez rares d'acné. Zit. bei Neisser.
Casagrandi, Boll. d. Soc. tra i cult. d. sc. med. e nat. in Gagliari 1906.
Caspary, Über Molluscum contagiosum. Arch. f. Dermat. 1882.
Charles W. Allen, Journ. of cut. and ven. dis. 1886.
Devergie, Maladies des follicules sébacées. 1854.
Diliberto, Sulla transmissibilita d. mol. cont. Giorn. italian. d. mal. ven. e d. pelle 1896.
Dubois-Havenith, Un cas de Mol. cont. communiqué par un nourrisson à sa mère. Journ. de Méd. de Bruxelles 1887. Nr. 5.
Duhring, Diseases of the skin. 1882.
Ebert, Über Molluscum contagiosum. Innsbrucker Naturforscherversammlung 1869. Ref. Arch. f. Dermat. 1870 und Berliner klin. Woch. 1885. Nr. 4.
Ehrmann und Fick, Einführung in das mikr. Stud. d. norm. und kranken Haut. Wien.
Fox, G., Transactions of the Amer. Med. Assoc. 1878.
Fox, T. C., Transaction of the path. Soc. London 1879.
Galli-Valerio, Notes de parasitologie etc. Centr. f. Bakt. 1905. Bd. 39. Arch. de parasit. 1904. T. IX.
Geber, Über einen Fall von Epithelioma molluscum universale und das Wesen der Geschwulstform speziell. Arch. f. Dermat. 1882.
Haab, Correspondenzblatt f. Schweizer Ärzte 1888.
Halberstaedter und v. Prowazek, Zur Ätiologie des Trachom. Deutsche med. Woch. 1907.
Hansemann, Kritische Bemerkungen über die Ätiologie der Carcinome. Berliner klin. Woch. 1894. Nr. 1.
Hebra, Ferdinand, Lehrbuch d. Hautkrankh. 1872.
Hebra, Hans, Die krankhaften Veränderungen der Haut 1884.
Henderson, Edinburgh med. and surg. Journ. 1841.
Herzog, Über einen neuen Befund bei Molluscum contagiosum. Virchow's Archiv. Bd. 176.
Hutchinson, Lecture of clinical Surgery 1878. London. (Zit. bei Neisser).
Israel, Oskar, Epithelioma folliculare cutis. Virchow's Arch. Festschrift Virchow 1891.
Juliusberg, Max, Zur Kenntnis des Virus des Molluscum contagiosum des Menschen. Deutsche med. Woch. 1905. Nr. 40.
Kaposi, Molluscum contagiosum giganteum. Arch. f. Dermat. 1897. Bd. 38.
Derselbe, Über das sog. „Molluscum contagiosum". Vierteljahrsschrift f. Dermat. 1877 und Wiener med. Presse 1877.
Kromayer, Die Histogenese der Molluskumkörperchen. Virchow's Arch. Bd. 132.
Kuznitzky, Martin, Beitrag zur Kontroverse über die Natur der Zellveränderungen bei Molluscum contagiosum. Arch. f. Dermat. 1895. Bd. 2.
Laache, Molluscum contagiosum giganteum. Nord. Med. Archiv. 1882.
Lindström, Zur Frage über das Molluscum contagiosum. Arch. f. Dermat. 1896. Bd. 36.
Lipschütz, B., Molluscum contagiosum. Wiener klin. Woch. 1910. Nr. 2.
Derselbe, Über Strongyloplasmen. Centr. f. Bakt. 1908. Bd. 48.
Derselbe, Untersuchungen über Molluscum contagiosum. Dermatol. Zeitschrift 1907. Bd. 14.
Derselbe, Zur Kenntnis des Molluscum contagiosum. Wiener klin. Woch. 1907. Nr. 9.

Lipschütz, B., Weitere Beiträge zur Kenntnis des Molluscum contagiosum. Arch. f. Dermatol. 1911.
Liveing, The Lancet 1878. Ref. Arch. f. Dermat. 1879.
Lubarsch, In Lubarsch-Ostertag 1894. I. Jahrgang, Abt. II und 5. Jahrgang S. 681.
Lukomsky, Über Molluscum contagiosum. Virchow's Arch. Bd. 65. 1875.
Lutz, De l'hypertrophie gén. du système sébacé. Paris 1860. Zitiert bei Kaposi.
Macallum, Journ. of cut. and urin. dis. 1892. Zit. bei Lubarsch.
Mackenzie, Cases illustrating the communicability of the Mol. cont. Brit. med. Journ. 1879.
Majocchi, Sulla contagiosità etc. Gaz. med. di Roma 1880.
Mittendorf, Zwei Epidemien von Molluscum contagiosum. Ref. Arch. f. Dermat. 1887. Bd. 19.
Mütze, Beitrag zur Kenntnis des Molluscum contagiosum der Lider. Arch f. Augenheilk. Bd. 33.
Neisser, A., Über das Epithelioma (sive Molluscum) contagiosum. Arch. f. Dermat. 1888.
Derselbe, Über die parasitäre Natur des Molluscum contagiosum. Monatsh. f. prakt. Dermat. 1882.
Derselbe, Über den gegenwärtigen Stand der Psorospermosenlehre. III. Kongreß der deutsch. derm. Ges. 1892.
Neumann, Diskussionsbemerkungen. III. Kongreß der deutsch. derm. Ges. 1892.
Nobl, Diskussionsbemerkungen. Wiener klin. Woch. 1910. Nr. 2.
Derselbe, Experimenteller Beitrag zur Inokulationsfähigkeit des Mol. cont. Arch. f. Dermat. 1895.
Omeltschenko, Ref. in Lubarsch-Ostertag.
Paterson, Edinburgh med. and surg. Journ. 1841.
Pick, F., J., Ist das Molluscum contagiosum kontagiös? III. Kongreß der deutsch. dermat. Ges. 1891. Ref. Arch. f. Dermat. 1892.
Pick, W., Zur Ätiologie des Molluscum contagiosum. Wiener klin. Woch. 1908.
v. Prowazek, Arch. für Schiffs- und Tropenkrankheiten. 1911.
Remlinger, les microbes filtrants. Bulletin de l'Inst. Past. 1906.
Retzius, On molluscum contag. Deutsche Klinik 1871.
Rindfleisch, Lehrbuch der pathol. Anatomie 1878.
Sabella, Experimentelle Untersuchungen über das Molluscum contagiosum des Menschen. Centr. f. Bakt. 1909. Bd. 51. S. 645.
Scherber, Diskussionsbemerkungen. Ref. Wiener klin. Woch. 1910. Nr. 2.
Seldowitsch, Russisches Arch. f. Path. 1898. Ref. in Lubarsch-Ostertag, siehe Lubarsch.
Serra, Sulla filtrabilita del virus del mollusco contagioso dell'uomo. Boll. d. soc. tra i cultori d. science med. e natur. in Cagliari 1907.
Simon, O., Über Molluscum contagiosum. Arch .f. Dermat. 1876.
Touton, Bemerkungen zu Kuznitzky's „Beitrag zur Kontroverse etc.“ Arch. f. Derm. 1895.
Török, Die neueren Arbeiten über die Psorospermien der Haut. Monatsh. f. prakt. Dermat. 1892. Bd. 15.
Derselbe, Spezielle Diagnostik der Hautkrankheiten. Wien 1906.
Török und Tommasoli, Über das Wesen des Epithelioma contagiosum. Monatsh. f. prakt. Dermat. 1890. Bd. 1.
Unna, Histopathologie 1894.
Vidal, Acné molluscum contagiosum généralisé. La France méd. 1889.
Derselbe, Inoculabilité de l'acné varioliforme. Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1878.
Virchow, Über Molluscum contagiosum. Virchow's Arch. 1865 und Berliner klin. Woch. 1865.
Winogradow, siehe Lubarsch.
Ziegler, Diskussionsbemerkungen. Ref. Centr. f. allg. Path. Bd. 7

Geflügelpocke
(Epithelioma contagiosum).

Von

B. Lipschütz.

1. Historisches über die Geflügelpocke und über den Erreger.

Die Geflügelpocke (Epithelioma contagiosum) ist eine weit verbreitete und nach den Angaben von Heusinger, Friedberger und Fröhner seit den ältesten Zeiten bekannte schwere Infektionskrankheit des Hausgeflügels. Sie befällt Tauben, Hühner, Gänse, Fasane, Truthühner und Habichte, und tritt in größeren und kleineren Epi- und Endemien auf, die in der Regel zur vollständigen Durchseuchung der von ihr befallenen Geflügelhöfe führen. Ältere Mitteilungen über Geflügelpocke liegen von zahlreichen Autoren vor: Rivolta, Bollinger, Csokor, Zürn, Polowinkin, L. Pfeiffer, Salmon, Mégnin, Becker, Vale, Sanfelice, Mingazzini u. A.

In früheren Jahrhunderten hielt man die Geflügelpocke für identisch mit der Variola oder ihr nahe verwandt. Man leitete daher auch den Ausbruch von Pockenepidemien von erkrankten Hühnern ab und im Mittelalter starben anscheinend blatternkranke Hühner massenhaft, ähnlich wie die Menschen (Reischauer). Von Raynal (1847) und Spinola (1858) wurde zuerst die Unabhängigkeit der Geflügelpocke von der Menschenpocke klar erkannt und Bollinger (1873), von dem der Name Epithelioma contagiosum herrührt, konnte sich ebenfalls von der Verschiedenheit beider Krankheiten überzeugen, wenn es ihm auch nicht gelungen war, „etwas zu entdecken was mit einigem Rechte als Ansteckungsstoff oder nur als verdächtig in dieser Richtung hätte bezeichnet werden können".

1869 deutete Rivolta die „Pockenkörperchen" als die Parasiten der Geflügelpocke und rechnete sie zu den Protozoen (Gregarinen). Später (1881) faßten Rivolta und Delprato den Erreger dieser Affektion als pflanzlichen Parasiten auf und schreiben: „Weil er (der Parasit) in die Epithelzellen der Haut und einige Schleimzellen eindringt, sich dort vermehrt und an Masse zunimmt, haben wir es passend gefunden ihn mit dem Namen *Epitheliomyces* zu belegen."

1889 beschrieb L. Pfeiffer die „fortschreitende Infektion der Epithelzellen" und bildete verschiedene Stadien im Entwicklungskreis des Parasiten ab, konnte jedoch über die Art und die systematische Stellung des Epitheliomparasiten nur eine Vermutung aufstellen; zu den Coccidien möchte er ihn nicht zurechnen, obwohl er mit

den von Neisser beim *Molluscum contagiosum* beschriebenen, als Coccidien gedeuteten parasitären Gebilden zahlreiche Ähnlichkeiten in seiner Entwicklung („Sporenbildung") aufweist.

Nach Mingazzini (1894) soll der Parasit der Geflügelpocke nur dann im Organismus sich fortpflanzen können, wenn er noch jung ist; im älteren Zustand ist er nicht entwicklungsfähig und bleibt als träger Körper liegen. Mingazzini spricht den von Aimé Schneider (1884) entdeckten, in den Epithelzellen des Darmes von Blaps lebenden Chytridiopsis socius als Erreger der Geflügelpocke an und ist geneigt einen Entwicklungszyklus des Virus außerhalb des Taubenorganismus anzunehmen.

Die Jagd nach dem Erreger zeitigte ferner die Arbeiten von Casagrandi (1897) und von Sanfelice (1897), nach welchen Blastomyceten eine Rolle spielen sollten und noch 1906 wurden von Reischauer in ausgedehnten Untersuchungen außerordentliche Schwankungen in Form, Größe und Bau aufweisende Gebilde beschrieben, die möglicherweise ätiologisch in Betracht kommen sollten.

Eine Ablenkung von den bisherigen unfruchtbaren Wegen in der Erforschung der Ätiologie der Geflügelpocke hatten jedoch schon 1902 die bedeutenden Untersuchungen von Marx und Sticker gebracht, welche die Filtrierbarkeit des Virus demonstrierten und die bisherigen Angaben der Autoren, welche zumeist (L. Pfeiffer, Casagrandi, Sanfelice) die Einschlußgebilde, die sogenannten „Pockenkörperchen" als Parasiten deuteten, stark erschütterten. Ähnlich wie das Molluskumvirus wird auch der Erreger der Geflügelpocke von Remlinger (1906) zu den „invisiblen" Infektionserregern gerechnet, obwohl zwei Jahre zuvor Borrel in einer äußerst knapp abgefaßten Mitteilung über einen typischen mikroskopischen Befund bei der Geflügelpocke berichtet hatte. Die Untersuchungen Borrel's wurden bisher von Burnet (1906), Lipschütz (1908) und v. Prowazek (1909) vollinhaltlich bestätigt.

2. Kurze Schilderung der Klinik.

Von den meisten Autoren wird übereinstimmend hervorgehoben, daß von den Symptomen der Krankheit die Veränderungen der Haut am meisten bekannt und am besten beschrieben sind. Am häufigsten treten Tumoren am Kamm, Kehllappen, an den Augenlidern, Schnabelwinkel, Ohr, After, Füßen und unter den Flügeln auf. Manchmal kommt es zur Konfluenz der Hauteffloreszenzen, so daß größere oder kleinere Hautbezirke von der Krankheit befallen werden. Die kleineren, isoliert stehenden Knötchen und Tumoren sind graugelblich, mäßig derb, glatt oder rauh bis warzig an der Oberfläche und sehr häufig von schmutzig grauweißen, verkrusteten, von Bakterien durchsetzten Epidermismassen bedeckt.

Nächst der Haut können auch die sichtbaren Schleimhäute, namentlich die Mundhöhle, Sitz der Krankheit sein und zwar in Form flacher Erhabenheiten, die sich später mit diphteritischen Membranen bedecken. Des Weiteren wird auch Befallensein der Conjunctiva und der Cornea, mit Perforation derselben und Zerstörung des inneren Auges beschrieben.

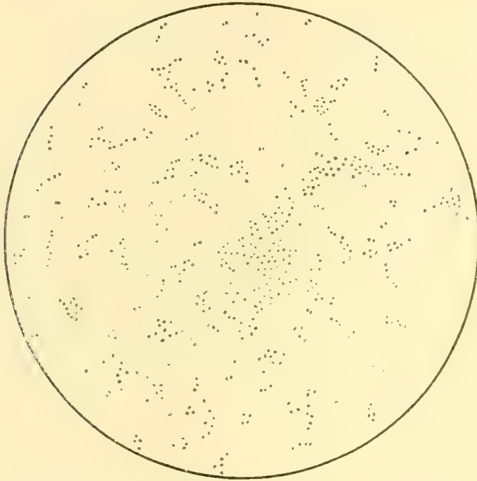
Als drittes Symptom kommen die Allgemeinerscheinungen in Betracht, bestehend in Appetitlosigkeit und starker Abmagerung. Unter allgemeiner Kachexie, zu der sich oft Cyanose hinzugesellen soll, tritt der Tod ein. In vielen Fällen dürften auch verschiedene Sekundärinfektionen, die den geschwächten Organismus befallen, für den letalen Ausgang verantwortlich zu machen sein. Überstehen die Tiere die Infektion, so schrumpfen nach etwa 3 bis 4 Wochen die Tumoren zusammen, die verkrusteten Epidermismassen fallen ab und es kommt zur vollkommenen Heilung, in der Regel sogar ohne Narbenbildung.

Für experimentelle Untersuchungen empfiehlt es sich, durch Rupfen der Federn die Haut der seitlichen Thoraxflächen bloßzulegen und daselbst die stark virushaltigen

Krusten einzureiben. Die Übertragung gelingt ferner sehr leicht auf den Kamm und auf die Cornea.

3. Wesen und Biologie des Erregers.

Mit Borrel, Burnet, v. Prowazek und Hartmann möchte Referent den von Borrel 1904 beschriebenen mikroskopischen Befund als Erreger der Geflügelpocke bezeichnen. Mit größter Regelmäßigkeit findet man in Tupfpräparaten oder in mit der Virusemulsion, nach Art der Herstellung von Blutpräparaten angefertigten Ausstrichen, außerodentlich zahlreiche, etwa $\frac{1}{4}\mu$ große, rundliche, unbewegliche Körperchen, die auch bei Beobachtung im Dunkelfeld nativ nachgewiesen werden können. Nach Löffler's Geißelfärbungsmethode nehmen sie einen leuchtend tief dunkelroten Farbenton an, nach Giemsa färben sie sich, etwas schwer, rötlich violett (Lipschütz). Nach den Untersuchungen von Prowazek und de Beaurepaire färben sie sich nicht nach Gram, in Gegensatz zu Kokken; mit Brillantkresylblau, daß die Leukocytenkerne blau oder violettrot, Kokken rotviolett färbt, erscheinen sie kaum bläulich gefärbt. Mit Ziehlschem Fuchsin erscheinen sie blässer und kleiner.



Ausstrich von Taubenpockenvirus. Giemsa-Färbung.

Die Vermehrung erfolgt durch Teilung, ähnlich wie bei den von Lipschütz beim Molluscum contagiosum, von v. Prowazek beim Trachom und bei der Variola beschriebenen Körperchen; neben einzelnen liegenden „Kugelformen" sieht man Körperchen, die dicht nebeneinander in „Doppelpunktform" vorkommen. Durch Auseinanderweichen der zwei Körperchen entsteht die „Biskuitform": beide Körperchen sind leicht ausgezogen, mit gegeneinander gerichteten verjüngten Enden. Aus der „Biskuitform" dürfte wieder die „Kugelform" abzuleiten sein.

An den Körperchen lassen sich weder Geißel, noch Membran oder Kapsel nachweisen, ebensowenig ist irgend ein weiteres Detail in ihrem Bau wahrnehmbar. In Löffler-Präparaten gewinnt man bei dicht nebeneinander oder in Haufen liegenden Körperchen oft den Eindruck eines ein jedes Körperchen umgebenden zarten Hofes; dieser ist vielleicht der Ausdruck einer die Körperchen einhüllenden, fettartigen Substanz (Borrel) oder einer Art von Bindesubstanz (v. Prowazek), die dann auch das Vorkommen der kleinen Elemente in kompakten Häufchen besser erklären würde. Beim Molluscum contagiosum wird eine derartige Bindesubstanz vermißt.

Züchtungsversuche des Virus, die von Burnet und später von Lipschütz auf Blutagar und im Collodiumsäckchen (im Kaninchenperitoneum) vorgenommen wurden, haben bisher keine Resultate ergeben. Löwenthal drückt sich vorsichtig aus: „Das Virus scheint auf künstlichen Nährböden (Bouillon) aus der Pocke, wie aus dem Herzblut kultivierbar zu sein (mit Reserve), wegen der bekannten außerordentlichen Resistenz des Virus." Bordet gelang es auf seinem für die Züchtung des Bacillus des Keuchhustens angegebenen Nährboden (ein nach besonderem Ver-

fahren hergestellter Blutagar), eine unsichtbar wachsende Kultur kleinster, nach Giemsa färbbarer Körperchen zu gewinnen und in mehreren Generationen fortzuzüchten, wobei das Virus der Geflügeldiphterie als Ausgangsmaterial diente. Neuere Untersuchungen von Carnwath und Uhlenhuth haben aber die Indentität der Geflügeldiphterie und Geflügelpocke fast sichergestellt, so daß der grundsätzliche Nachweis einer Reinkultivierung des Geflügelpockenvirus Bordet gelungen zu sein scheint. Lipschütz und später Uhlenhuth konnten bisher an Pockenmaterial die Bordet'schen Angaben nicht bestätigen; das Mißlingen dieser Untersuchungen kann möglicherweise in einzelnen technischen Details seinen Grund haben. In letzter Zeit hat Bordet ausführlich über die Reinzüchtung des Geflügeldiphterievirus berichtet, lehnt jedoch, wie bisher, die Identität von Geflügeldiphterie und -pocke ab. Mit Reinkulturen des Geflügeldiphterievirus konnten Bordet und Fally Tiere in typischer Weise infizieren; ob mit diesen Kulturen das klinische Bild der Geflügelpocke erzeugt werden kann, wird von den Autoren nicht mitgeteilt.

Das Geflügelpockenvirus ist außerordentlich infektiös und in der erkrankten Haut in enormen Mengen enthalten. Eine zweitausendfache Verdünnung einer leichten Aufschwemmung des Virus kann die Pocke erzeugen (Burnet). Im experimentellen Versuch genügt, wie bereits erwähnt, leichtes Einreiben virushaltiger Krusten, um das schwere Krankheitsbild und selbst den Tod der Tiere herbeizuführen. Indes gelang es Referenten bisher kein einziges Mal eine Stallinfektion zu beobachten, obwohl durch langes Zusammenleben kranker Tiere mit gesunden, zweifellos Gelegenheit für die natürliche Infektion gegeben war. Es scheinen also bei letzterer noch eine Reihe von Faktoren eine Rolle zu spielen, die uns bisher nicht bekannt geworden sind. Namentlich sind wir über den Infektionsmodus fast gar nicht unterrichtet. Dringt das Virus durch eine kleine Hautverletzung in den Organismus, erfährt daselbst eine Generalisierung und wird sekundär verschiedenen Hautstellen auf hämatogenem Wege zugeführt, — oder handelt es sich um eine primäre Hauterkrankung, — oder stellt etwa der Darmkanal die Eintrittspforte für das Virus dar? Letztere Infektionsmöglichkeit gewinnt sehr an Wahrscheinlichkeit durch die Versuche Burnet's, der durch Fütterung mit virushaltigem Material in exakter Weise das typische Bild der Pocke erzeugen konnte.

Das genaue Studium der aufgerollten Frage scheint Referenten von Bedeutung zu sein, da sich hiedurch möglicherweise eine wissenschaftliche Erklärung der Pathogenese einer Reihe verbreiteter menschlicher Dermatosen (Psoriasis vulgaris, Lichen ruber planus usw.) geben ließe.

Das Virus der Geflügelpocke findet sich nicht nur in der erkrankten Haut, sondern nach den Untersuchungen von Löwenthal, Burnet, Lipschütz, Uhlenhuth u. a. auch im Blut, sowie, in wechselnden Mengen, in den meisten Parenchymorganen (Leber, Milz, Niere, vielleicht auch Gehirn usw.). Das Virus kreist im Organismus, im Gegensatz zur Vaccine durch längere Zeit. In den Parenchymorganen gelingt nach Burnet und Lipschütz der experimentelle Nachweis des Virus schon 8 bis 10 Tage nach der kutanen Impfung. Wie lange das Virus in den inneren Organen enthalten sein kann, geht aus Untersuchungen des Referenten hervor, welche zeigen, daß noch 4 Wochen nach vollkommen abgeheilten Hauterscheinungen, Leber und Niere sich im Experiment mehr oder minder virushaltig erweisen. Der Erreger erfährt also einerseits eine rasche Generalisierung im Organismus und bleibt andererseits längere Zeit in den Geweben erhalten, obwohl die krankhaften Hautveränderungen bereits abgeklungen sind und die Tauben eine absolute aktive Immunität erlangt haben.

Das Virus der Geflügelpocke ist ein dermotroper Infektionserreger (siehe Anhang zu: Chlamydozoa — Strongyloplasmen, Abschnitt über Dermotropismus) ähnlich wie das Vaccine-Variolavirus und wie der Erreger der Maul- und Klauen-

seuche. Es besitzt eine maximal gesteigerte Avidität zum Hautorgan und ruft ausschließlich in diesem pathologische Veränderungen hervor; in den inneren Organen befindet es sich im Stadium des latenten Mikrobismus. Selbst nach intravenöser Infektion findet man nach den Untersuchungen von Lipschütz die inneren Organe unverändert, obwohl sie Virus enthalten.

Nach den Untersuchungen von Marx und Sticker ist das Hühner pockenvirus filtrierbar und zwar passiert es Berkefeldfilter, von Chamberlandkerzen wird es zurückgehalten. Diese Untersuchungen fanden Bestätigung in der Arbeit Juliusberg's, der die Filtrierbarkeit des Tauben pockenvirus demonstrierte und in den ausgedehnten Versuchen Burnet's. Von besonderem Interesse sind die Mitteilungen von v. Prowazek und de Beaurepaire über die Colloidfiltration des Geflügelpockenvirus. Durch Anreicherung auf dem Agarfilter konnte das infektiöse Material leicht gewonnen und in ihm die Borrel'schen Körperchen in großer Zahl nachgewiesen werden. (Über Colloidfiltration, siehe Abschnitt von v. Prowazek über Variola.)

Die Inkubation beträgt in experimentellen Infektionen nur wenige, 6 bis 8 Tage. Nach Filtratimpfungen erfährt die Inkubation eine Verlängerung von einigen Tagen (Marx und Sticker) oder selbst eine dreifache Verlängerung der normalen Latenzperiode (Juliusberg). Der Ansicht Juliusberg's, der die Inkubationsverlängerung auf einen Wachstumsvorgang des Virus, ehe es inokulationsfähig wird, zurückführen will, möchte Referent nicht beipflichten. Viel einfacher und plausibler dürfte dieser Vorgang in einer stark reduzierten Virusmenge, die nach der Impfung verhältnismäßig spät klinische Erscheinungen auslöst, seine Erklärung finden.

Physikalischen und chemischen Einflüssen gegenüber erweist sich das Geflügelpockenvirus außerordentlich widerstandsfähig und dürfte — vielleicht mit Ausnahme des Virus der Gelbsucht der Raupen — wohl den resistentesten Infektionserreger abgeben. Es verträgt völlige Eintrocknung durch lange Zeit, so daß in der Eprouvette aufbewahrte Krusten noch nach einem und einundeinhalb Jahren sich virulent erwiesen. In einem infizierten Geflügelhof, welcher einen ganzen Winter leer gestanden hatte, kam die Krankheit im Frühjahr unter einer neuen Hühnerherde wieder zum Ausbruch (Bollinger). Nach Sanfelice wird das Virus zerstört in 1% Kalilauge, in 1% Essigsäure, ½—1% Karbolwasser und in einer 1% Sublimatlösung nach 5 Minuten. Nach Marx und Sticker verträgt das Virus mehrwöchentliches Aussetzen dem diffusen Tages- und dem Sonnenlicht; längere Einwirkung einer Temperatur —12 Grad, dreistündiges Erwärmen auf 60 Grad, einstündiges Erwärmen auf 100 Grad, falls das Virus vorher eingetrocknet und im Vacuumröhrchen eingeschmolzen war, ferner mehrwöchentliches Aufbewahren in Glyzerin. Empfindlicher ist es gegen die Einwirkung von Karbol, welches es in 2% Lösung vernichtet. Gegen Radium erwies es sich nach 5½ Stunden resistent (Löwenthal), Zusatz von 1% Erytrosin tötet das Virus nach dreitägiger Belichtung (Tageslicht) ab (Juliusberg). Atoxyl in 10% Lösung läßt das Virus unbeeinflußt (Lipschütz), von Saponin und taurocholsaurem Natrium wird es zum Teil angegriffen, jedoch nicht vollkommen vernichtet (Lipschütz, v. Prowazek und de Beaurepaire). In Glyzerin fand es Burnet nach 120 Tagen virulent, in 10% Antiformin war es in 24 Stunden nicht sicher abgetötet (Uhlenhuth).

4. Histologie der Geflügelpocke.

Die Schilderung des histologischen Bildes der Geflügelpocke zeigt bei den einzelnen Autoren Abweichungen, je nachdem das eine Mal die Pocke ihren Sitz am Kamm, das andere Mal auf der Brust hatte und ferner je nachdem bloß die Veränderungen der Epidermis oder auch die des Corium Berücksichtigung fanden. Des weiteren erfährt der histologische Aufbau der Geflügelpocke gewisse Modifikationen durch den

Sitz der Krankheit auf den Schleimhäuten, auf der Cornea oder Conjunctiva usw. Schließlich müssen auch die Ergebnisse der Untersuchung der inneren Organe kurze Erwähnung finden.

Im allgemeinen reagieren beide Bestandteile der Haut — Epidermis und Corium — fast gleichzeitig auf das Eindringen des Virus. Im Epithel findet man nicht nur Hyperthrophie der Retezellen, sondern auch proliferative Vorgänge, Auftreten kompakter in die Tiefe reichender, die zelligen Elemente des Corium verdrängender Zapfen, doch bietet sich ein krebsähnliches Aussehen, wie einzelne Autoren meinen, nie dar.

Das Interesse der Autoren haben die in den Retezellen neben dem Kern gelegenen Einschlüsse gefunden, die zuerst 1865 von Rivolta beschrieben und für Gregarinen gehalten wurden. Auch in späteren Arbeiten wurden sie für Parasiten erklärt und in der von Sanfelice seiner Arbeit beigegebenen Zeichnung genau abgebildet, jedoch als Blastomyceten gedeutet, während Benda sie für Amoeben halten möchte. Es unterliegt heute nach den Untersuchungen von Apolant, Michaelis, Burnet u. a. keinem Zweifel, daß die Einschlüsse, „Geflügelpockenkörperchen" genannt, Analoga der bei einer großen Zahl von Krankheiten (Molluscum, Vaccine-Variola, Lyssa usw.) vorkommenden Gebilde darstellen und als auf das Eindringen des Geflügelpockenvirus entstandene spezifische Reaktionsprodukte des Gewebes gedeutet werden müssen. Die die Einschlüsse enthaltenden Zellen sind auf das drei bis vierfache ihres Volumens vergrößert, zeigen oft ein vakuolisiertes Protoplasma und schließen neben dem fast immer erhaltenen, jedoch Veränderungen aufweisenden Kern, das „Pockenkörperchen" in Form einer rundlichen einer Hefezelle nicht unähnlichen, gut färbbaren, meist opaken Masse ein (siehe Tafel V mittlere Reihe, Fig. 1—5).

Apolant unterscheidet die bei der Geflügelpocke auftretenden Zelleinschlüsse in zwei essentiell und genetisch voneinander zu trennende Bildungen, von denen die einen als Analogen der „Molluskumkörperchen" aufgefaßt, während die anderen nach dem „der sie zwar nicht entdeckt, aber zuerst genauer beschrieben hat" als Benda'sche Körperchen bezeichnet werden. Letztere verdanken den Kernveränderungen (Degeneration des Nucleolus, Verklumpung des Kernchromatins) ihre Entstehung indem es zum Austreten von Kernsubstanz (Chromidien?) ins Protoplasma in Form verschieden großer rundlicher oder mehr stäbchenförmiger Gebilde kommt: die Bendaschen Körperchen. Die großen rundlichen Einschlüsse, die „Geflügelpockenkörperchen" entstehen durch Degeneration des Protoplasmas, indem dasselbe zuerst körnig, dann grob getüpfelt erscheint: durch Verschmelzen der Tüpfel entstehen die großen Gebilde; beide Produkte verdanken ihre Genese dem Eindringen des Virus. Nach den Untersuchungen Apolant's sind die Pockenkörperchen fetthaltig, schwärzen sich bei Osmiumbehandlung und sind mit Scharlach R. färbbar.

Auch nach Michaelis zeigen die Einschlüsse Fettreaktion, außerdem die sogenannte „Beizenreaktion", ein der Weigert'schen Markscheidenfärbungsmethode nachgebildetes Verfahren, bei welchem sie eine blauschwarze Farbe annehmen. Auch kann man dann oft ein blasses oder ungefärbtes Zentrum von einem stärker gefärbten Ring unterscheiden, mitunter zeigen sie ein maulbeerartiges Aussehen. Bei der gewöhnlichen Eosinfärbung ist ebenfalls häufig eine scharfe Ringstruktur und ein wabenartiger Bau zu erkennen. Michaelis unterscheidet eine fettartige und albuminoide Substanz, die in den Einschlüssen in homogener Mischung vorhanden sind. Ihre parasitäre Natur kann nicht sicher behauptet werden.

Schuberg und Schubotz fanden die Pockenkörper in frischem Zustand opak, stark lichtbrechend, unbeweglich; durch Osmiumsäure wurden sie geschwärzt, Millons Reagens färbte sie nicht, von Verdauungsflüssigkeiten wurden sie kaum verändert, in Aceton ist ein Teil der die Einschlüsse aufbauenden Substanz löslich.

Außer den schon bekannten „Pockenkörpern" fanden Schuberg und Schubotz

in den erkrankten Epidermiszellen der mittleren Schichten nach Giemsa purpurrot gefärbte Gebilde, die in Form, Größe und Anordnung Unterschiede aufwiesen und manchmal kettenartig aneinander gereiht waren. Über die Natur dieser Gebilde konnte eine sichere Entscheidung nicht getroffen werden. Zu den Befunden von Borrel, Burnet und Lipschütz verhalten sich die Autoren skeptisch, doch muß hier betont werden, daß sie sich der Löffler'schen Methode, die sich für die Darstellung der Borrelschen Körperchen von ganz besonderer Bedeutung erwiesen hat, nicht bedient hatten.

Von besonderem Interesse sind die Untersuchungen Burnet's, mit denen auch die des Referenten übereinstimmen. Im nativen Zustand beschreibt Burnet die Pockenkörperchen als strukturlose, stark lichtbrechende Massen. Im Schnitt sind sie mit allen üblichen Fixations- und Färbeverfahren sehr deutlich darstellbar. Bemerkenswert sind die von Burnet in den erkrankten Retezellen vergleichsweise nach verschiedenen Färbeverfahren studierten Bestandteile. Zellkern und Einschlußkörperchen sind im histologischen Präparat stets nachweisbar. In nach Ewings Klatschmethode isolierten Zellen fand Burnet nach Giemsa-Färbung bloß den Kern und im Protoplasma gelegene, Kernfarbe annehmende Granulationen (Chromidien), vermißte jedoch das Einschlußkörperchen: dieselben Präparate zeigten nach Löffler's Geißelfärbungsmethode neben dem Kern außerordentlich zahlreiche kleinste, tief dunkelrote Körperchen, die haufenweise dicht nebeneinander lagen, während der Einschluß und die Chromidien fehlten. Es war also gelungen mit Hilfe besonderer Präparationsmethoden an Stelle des Einschlusses die von Borrel beschriebenen, als Virus zu deutenden Körperchen zur Darstellung zu bringen, gewissermaßen eine Auflösung des Einschlusses in seine Elemente zu bewirken. Diese Untersuchungen Burnet's erfahren eine Ergänzung in der von Lipschütz festgestellten Färbbarkeit der Borrel'schen Körperchen auch nach der Giemsa-Färbung.

Zusammenfassend unterscheiden wir also: 1. die „Pockenkörperchen" als Reaktionsprodukte des Protoplasmas, die chemisch durch ihren Fettgehalt ausgezeichnet sind, in großen Mengen auftreten und offenbar die Hülle oder Bindesubstanz (v. Prowazek) für die in kompakten Häufchen auftretenden „Elementarkörperchen" (Virus) der Geflügelpocke abgeben; 2. die Benda'schen „Körperchen" in Form verschieden großer, stäbchenförmiger oder rundlicher oder selbst in kurzen Kettenformen auftretender Gebilde; sie entstehen durch degenerative Veränderungen des Kernes, wobei es zur Ausstoßung von Kernsubstanz ins Protoplasma kommt (siehe Tafel V); 3. die Borrel'schen Körperchen, nach Löffler und Giemsa in Ausstrich- und Klatschpräparaten färbbar, die als „Elementarkörperchen" oder Strongyloplasmen der Geflügelpocke bezeichnet werden können. In Schnitpräparaten ist es bisher nur gelungen, die sub 1 und 2 erwähnten Gebilde darzustellen; „die Elementarkörperchen" konnten von Referenten auch nach Giemsa's feuchter Methode im Schnitt nicht nachgewiesen werden.

Neben den bisher besprochenen Veränderungen der Epidermis, müssen die von den meisten Autoren mit Unrecht vernachlässigten Alterationen des Corium besonders hervorgehoben werden. Wenn auch hier Einschlüsse nicht nachweisbar sind — nur Michaelis beschreibt Reste von lipoidhaltigen Einschlüssen im Bindegewebe während des Abheilungsstadiums — so beansprucht die Erkrankung des Corium theoretisches Interesse, da sie ebenfalls als direkte Reaktion des Gewebes auf das Eindringen des Virus aufgefaßt werden muß. Nach den Untersuchungen von Lipschütz treten die zelligen Infiltrate des Corium, sowohl bei kutaner Impfung als auch nach intravenöser Injektion mit nachfolgender (24 Stunden später durchgeführten) Hautreizung, regelmäßig und gleichzeitig mit dem Erscheinen der Epithelveränderungen auf: der Erreger der Geflügelpocke ist zwar ein dermotropes, aber kein — wie das Molluskumvirus — ausschließlich epidermales Virus.

Die entzündlichen Erscheinungen des Corium sind beim Huhn viel stärker ausgeprägt als bei der Taube; bei ersterem ist namentlich das Auftreten eines beträchtlichen Oedems in den tieferen Anteilen der Cutis und in der Subcutis bemerkenswert, so daß nach Einschneiden daselbst eine seröse, virulente Flüssigkeit gewonnen werden kann. Das entzündliche Infiltrat umgibt die proliferativen Reteveränderungen und zeigt das lebhafte Bild der subakuten oder chronischen Entzündung mit stellenweise in Haufen angeordneten Plasmazellen (Lipschütz). Frühzeitig kommt es an einzelnen Stellen zu degenerativen Veränderungen und zu lokalen Nekrosen, die dann meist den Sitz von sekundär angesiedelten Saprophyten abgeben. Unter letzteren kommt häufig ein kleiner Staphylococcus (kulturell Staphylococcus albus?) vor.

Die beschriebenen histologischen Veränderungen erleiden, wie bereits erwähnt, geringe Abweichungen je nach dem Sitz der Krankheit. Nach Impfungen am Kamm treten namentlich die Retewucherungen besonders stark hervor. An den Schleimhäuten stimmen die histologischen Veränderungen entweder mit denen der Haut überein oder zeigen vornehmlich da Bild der croupös-diphtheritischen Entzündung (Reischauer). In den erkrankten Partien des Rachens und Gaumens fanden Schuberg und Schubotz Zelleinschlüsse, die vollkommen denen in der Haut, speziell in der Epidermis des Kammes vorkommenden entsprachen.

In den Belägen der Mundschleimhäute findet man einen Flagellaten, Trichomonas columbarum, der mit der Ätiologie der Geflügelpocke nichts zu tun hat, da er auch normal im hinteren Rachenanteil der meisten Vögel vorkommt (Löwenthal, v. Prowazek und Beaurepaire).

Aus den Belägen wurden ferner von Carnwath verschiedene diphterieähnliche und andere Bazillen herausgezüchtet, mit denen jedoch stets negative Impfresultate erzielt wurden.

Corneaimpfungen mit Geflügelpockenvirus sind von Burnet und Lipschütz genauer studiert worden. Etwa acht Tage nach der nach Art der Vaccineimpfung erfolgten Inokulation zeigt die Cornea zarte, grauweißliche, kaum elevierte Trübungen. Bemerkenswert ist die Angabe Burnet's, daß nach der Impfung makroskopisch normal gebliebene Corneae virushaltig sind; bekanntlich gelingt es nach Kraus Kaninchen mit Lyssavirus durch corneale Impfung zu infizieren, wobei die Cornea zwar Virus enthält, jedoch keine sichtbaren Veränderungen aufweist. Mit der geimpften Cornea gelang es Tauben kutan in typischer Weise zu infizieren (Lipschütz). Die geimpften Corneae heilen in etwa 2 bis 3 Wochen mit Hinterlassung zarter oder ausgeprägter weißlicher opaker Trübungen ab. Histologisch findet man eine sehr stark ausgeprägte Hypertrophie der Epithelzellen und Auftreten ausgebildeter „Pockenkörperchen“ im vakuolisierten Protoplasma, vollkommen ähnlich den in der erkrankten Haut nachzuweisenden Einschlußprodukten.

Im Gegensatz zu der schweren Erkrankung der Haut und Schleimhäute zeigen die inneren Organe keine histologische Veränderungen; bei makroskopischer Besichtigung wurde von Bollinger eine auffallende Anämie hervorgehoben. Die Organe sind jedoch, wie bereits erwähnt wurde, virushaltig.

6. Immunität.

Das Studium der Immunität bietet bei der Geflügelpocke besonders bemerkenswerte Gesichtspunkte dar und hat erst in letzterer Zeit genaue Bearbeitung gefunden (Burnet, Lipschütz, Manteufel). Einerseits lassen sich Analogien mit den beim Studium der Vaccineimmunität gewonnenen Beobachtungen feststellen; andererseits aber unterscheidet sich das Geflügelpockenvirus durch seine Generalisierung im Organismus vom Erreger der Vaccine und der Variola. Wie bereits erwähnt, konnte Referent noch 4 Wochen nach vollkommen abgeheilten Hauterscheinungen in den

Parenchymorganen Virus nachweisen, zu einer Zeit, wo die kutan geimpften Tauben bereits eine vollkommen ausgebildete aktive Immunität erlangt hatten. Der immune Organismus ist Parasitenträger.

Ob die Immunität bloß eine histogene ist, wie beispielsweise für die Vaccine von v. Prowazek angenommen wird, dürfte nach diesem Sachverhalt nicht ohne weiteres zu entscheiden sein. Nach den Untersuchungen Manteufel's ist die kutane Immunität bei der Geflügelpocke im wesentlichen ein Symptom der allgemeinen Körperimmunität. Für diese Ansicht könnte auch die Tatsache angeführt werden, daß es gelingt Tauben durch intravenöse Injektion selbst ohne Ausbildung kutaner Erscheinungen zu immunisieren.

Eine allgemeine aktive Immunität wird in der Regel bloß nach Überstehen der Krankheit erworben (Marx und Sticker, Burnet, Uhlenhuth, Lipschütz, Manteufel). Sie tritt nicht mit einem Schlag auf, sondern wird erst gegen Ende der dritten Woche vollständig; vor dieser Zeit ausgeführte Impfungen gehen nicht gut an oder heilen schnell ab. Nach Löwenthal soll es auch eine natürliche Immunität geben; dieser Autor macht ferner die Angabe zwei Monate nach der Infektion wieder empfängliche Tiere beobachtet zu haben.

Die erlangte Immunität erstreckt sich auch auf die Schleimhäute (Carnwath, Uhlenhuth). Die häufig zu machende Beobachtung, daß an die Pockenerkrankung sich keine diphteritische Affektion (Geflügeldiphterie), und an letztere sich keine Pockenerkrankung anschließt, möchte Sticker durch eine Art von Zonenimmunität erklären. Ist nämlich die äußere Haut umfangreich in den Erkrankungsprozeß hineingezogen, so bleibt die Schleimhaut unversehrt und umgekehrt.

Durch subkutane oder intravenöse Injektion kann eine aktive Immunisierung — nach den Erfahrungen des Referenten nicht regelmäßig — ebenfalls erzielt werden (Burnet, Manteufel, Lipschütz).

Eine praktische Methode der Schutzimpfung ist bisher nicht ausgearbeitet worden. Mit durch Hitze abgetötetem Virus konnte Lipschütz keine Immunisierung erzielen. Nach Manteufel wird das Virus durch Kaninchengalle abgeschwächt; nach subkutaner Injektion der Virusgallengemische erwiesen sich die Tiere bei einer späteren Nachimpfung auf den Kamm zum größten Teil immun, bei kutaner Applikation waren jedoch mit diesen Gemischen Krankheitserscheinungen auslösbar.

Das Serum immuner Tiere besitzt weder eine Heil- noch eine Schutzvorrichtung (Burnet, Manteufel). Ob mikrobizide Antikörper im Blutserunm enthalten sind, konnte nicht vollkommen einwandfrei nachgewiesen werden.

Mit Ultrafiltraten konnten von Prowazek und de Beaurepaire eine Immunität nicht erzielen.

Bemerkenswert sind die Immunitätsverhältnisse der Taubencornea. Histologisch und experimentell verhält sie sich ähnlich wie die Kaninchencornea gegenüber der Vaccine, das heißt sie ist für das Virus im hohen Maße empfänglich und reagiert mit der Bildung typischer „Pockenkörperchen“. Das gegenseitige immunisatorische Verhalten von Corneaepithel und Haut wurde von Burnet und Lipschütz genauer studiert. Burnet hat die interessante Angabe gemacht, daß mehrere von ihm corneal geimpfte Tauben nach 17 und 19 Tagen eine vollständige kutane Immunität aufwiesen. Lipschütz hat corneal geimpfte Tauben nach verschieden langer Zeit (vom 10. bis 25. Tag) kutan reinokuliert. Nach 10 Tagen bestand keine Immunität, von den später reinokulierten Tauben waren einige — entsprechend den Angaben Burnet's immun, andere reagierten in typischer Weise. Ferner ließ sich feststellen, daß kutan geimpfte Tauben in keinem Falle eine Immunität der Cornea erlangt hatten. Die Immunitätsverhältnisse liegen also hier ganz ähnlich wie bei der Vaccine, denn nach v. Prowazek sowie Kraus und Volk bleibt einerseits die Cornea

des immunisierten Macaccus für das Virus noch empfänglich, während andererseits die corneale Impfung keine Hautimmunität herbeiführt.

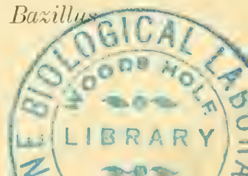
Biologisch von besonderem Interesse ist die von MARX und STICKER experimentell festgestellte Mitigation des Taubenpockenvirus, indem es schon nach einer einmaligen Passage durch das Huhn eine ganz erhebliche und stets hervortretende Abschwächung seiner Virulenz für die Taube erleidet; in zwei Versuchen war die Virulenzabschwächung eine absolute. MARX und STICKER stellen die Mitigation des Geflügelpockenvirus der bekannten Abschwächung des Variolavirus durch Übertragung auf das Rind an die Seite. Dieses eigentümliche Phänomen war auch BOLLINGER bekannt, der gezeigt hatte, daß es nicht gelingt das Epitheliom vom Huhn auf die Taube zu übertragen, was umgekehrt keine Schwierigkeiten bereitet.

Durch fortgesetzte Passagen wollen MARX und STICKER eine Abkürzung der Latenzperiode bis auf 2 oder 3 Tage erzielt haben (beim Huhn); JULIUSBERG hingegen fand bei Tauben durch fortgesetzte Passagen eine Virulenzabnahme mit Verlängerung der Inkubation, schließlich Avirulenz.

7. Beziehungen zwischen Geflügelpocke und einigen anderen Krankheiten.

a) Nach FRIEDBERGER und FRÖHNER besteht kein durchgreifender klinischer Unterschied zwischen Geflügelpocke und Geflügeldiphterie. In den Lehrbüchern und Arbeiten von HUTYRA und MAREK, KITT, NOCARD und LECLAINCHE, SCHNEIDEMÜHL, MOORE, LOIR und DUCLOUX wird die Identität beider Krankheiten zum Teil bestritten, zum Teil noch für eine offene Frage gehalten; REINER MÜLLER trennt die Geflügelpocke von der Geflügeldiphterie und HAUSER ist der Ansicht, daß beide Affektionen rein zufällig nebeneinander hergehen können. LÖWENTHAL, BURNET, REISCHAUER, LIPSCHÜTZ und STICKER betrachten die Schleimhauterkrankungen als Anzeichen der Pockenkrankheit. In exakter Weise wurde die einheitliche Ätiologie der Geflügelpocke und -diphterie durch die experimentellen Untersuchungen CARNWATH's und UHLENHUTH's nachgewiesen, wobei wie UHLENHUTH schreibt, es noch immerhin möglich erscheint, daß neben der durch das Virus der Geflügelpocke hervorgerufenen Geflügeldiphterie, auch gewisse, ätiologisch von dieser verschiedene Formen der Diphterie bei Geflügeln vorkommen. Die gegen die Untersuchungen CARNWATH's von BORDET und FALLY ausgesprochene Ansicht, daß das Material, mit dem CARNWATH gearbeitet hat, von einer zufälligen Mischinfektion zwischen Diphterie und Pocken herrühren möge, sind durch die neueren Untersuchungen UHLENHUTH's wohl als widerlegt zu betrachten. Es konnte nämlich die Rückimpfung vom Kamm auf den Rachen mit dem CARNWATH'schen Virus, noch nachdem es zwei Jahre lang durch Verimpfung von Kamm zu Kamm fortgezüchtet worden war, ausgeführt werden, was wohl nicht für eine zufällige Mischinfektion sprechen würde. Des weiteren gelang es in sämtlichen Fällen durch Verimpfung von Pockenmaterial vom Kamm oder von der Haut auf die skarifizierte Mundschleimhaut diphteritische Beläge, und durch Verimpfung von Diphteriematerial auf den skarifizierten Kamm Impfepitheliome zu erzeugen. Der FALLY'sche Einwand, daß die Geflügeldiphterie von Hühnern auf Tauben nicht übertragen werden kann, besteht zwar zu Recht, dürfte jedoch in der von MARX und STICKER nachgewiesenen Mitigation des Pockenvirus durch Hühnerpassage eine verständliche Erklärung finden. Schließlich konnte UHLENHUTH — entgegen FALLY — den Nachweis führen, daß nicht nur die Geflügelpocke, sondern auch eine gewisse Form der Geflügeldiphterie eine allgemeine Infektion darstellt, bei der das Virus im Blut kreist. Die Untersuchungen UHLENHUTH's sind von SCHMIDT bestätigt worden.

Als Erreger der Geflügeldiphterie wurde 1884 von LÖFFLER der *Bazillus*



diphtheriae columbarum beschrieben, für dessen ätiologische Bedeutung Babes und Puscariu eingetreten sind. Außerdem wurden von Reiner Müller, Loir und Ducloux, Hauser, Moore und anderen Autoren vom Löffler'schen Bazillus differente Stäbchen als Befunde bei Geflügeldiphtherie erwähnt. Bordet und Fally gelang es 1907 bei Geflügeldiphtherie in Reinkulturen wachsende etwa $\frac{1}{4}\mu$ große, rundliche, nach Giemsa gut färbbare Körperchen nachzuweisen und, wie bereits erwähnt, mit den Reinkulturen wieder Hühner zu infizieren. Den Befunden von Bordet und Fally ist in mehrfacher Hinsicht große Bedeutung beizulegen, da man per analogiam berechtigt ist auch auf die parasitäre Natur der bei Variola-Vaccine, Trachom und Molluscum contagiosum gemachten Befunde zu schließen.

b) Geflügelpocke und Molluscum contagiosum des Menschen sind ätiologisch differente Affektionen. Ältere Autoren (Czokor, Bollinger) glaubten sie identifizieren zu können oder auf Ähnlichkeiten, die zwischen beiden Krankheiten bestehen hinweisen zu müssen. Sanfelice hält sie zu derselben Gruppe gehörig, führt jedoch ihre Trennung auf Grund der Unmöglichkeit Molluscum auf Tauben zu übertragen durch. Auf den Menschen ist die Geflügelpocke nicht übertragbar (Juliusberg). Molluscum contagiosum und Geflügelpocke sind übrigens nicht nur ätiologisch, sondern auch vom klinischen und pathogenetischem Standpunkt und auf Grund der Verschiedenheiten ihres histologischen Baues vollkommen verschiedenartige Krankheiten. Gemeinsam bleibt beiden die Filtrierbarkeit des Virus und die letzteres auszeichnende Fähigkeit Epithelproliferationen zu erzeugen.

c) Über die Beziehungen gewisser Dermatosen unbekannter Ätiologie (Psorospermosis follicularis vegetans, Pagets disease usw.) zur Geflügelpocke sei der Vollständigkeit halber erwähnt, daß Sanfelice geneigt war Geflügelpocke, Molluscum contagiosum des Menschen, Pagets disease und Psoraspermosis follicularis vegetans (Darier) in eine gemeinsame Gruppe von Affektionen einzureihen, die alle durch Blastomyceten hervorgerufen werden. Darier hingegen hatte die bei Psorospermosis follicularis von ihm in großer Zahl gefundenen Körper auf Grund des Urteiles von Malassez und Balbiani für Psorospermien erklärt; bei Pagets disease beschrieben Darier und Wickham Coccidien. Neisser wies 1892 auf die Befunde Darier's besonders hin, führte auch vergleichsweise die Taubenpocke an, verhielt sich aber im ganzen zu der Psorospermosenlehre Darier's sehr reserviert. Durch die Untersuchungen von Török, Tommasoli u. a. wurde schließlich der Nachweis der degenerativen Natur dieser für Parasiten gehaltenen Körper erbracht.

d) Über die Beziehungen der Geflügelpocke zu den krebsartigen Neubildungen (Carcinom). Bis vor wenigen Jahren suchte man mit Vorliebe aus gewissen Ergebnissen der histologischen Untersuchung der Geflügelpocke, des *Molluscum contagiosum* des Menschen, auch der Vaccine und Variola Anhaltspunkte für die ätiologische Erforschung der krebsartigen Geschwülste zu gewinnen. Die bei den genannten Krankheiten auftretenden Epithelproliferationen und -hypertrophien und das Vorkommen eigentümlicher Körper („Einschlüsse") in den Retezellen, die als Parasiten gedeutet wurden (Sanfelice, Bosc usw.) führten zu Analogieschlüssen beim Studium des Carcinoms und so entstand die große Literatur der „Pseudoprotozoen", die heute wohl nur mehr historisches Interesse beansprucht. Es ist nicht im Rahmen dieses Artikels gelegen auf diese hier nur in aller Kürze berührte Frage näher einzugehen, es soll jedoch auf die interessante Studie Borrel's „les épithélioses infectieuses et les épithéliomas" hingewiesen werden, welche Anregungen für die weitere Erforschung krebsartiger Neubildungen liefert und zwar im unmittelbaren Anschluß an die beim Studium der Geflügelpocke, Vaccine usw. gesammelten Beobachtungen und Erfahrungen. Namentlich weist Borrel darauf hin, daß die krebsartigen Neu-

bildungen durchaus nicht ein in der Pathologie ohne Beispiel darstehendes Gepräge besitzen, vielmehr lassen sich bei den von ihm studierten „Epitheliosen" Ähnlichkeiten vorfinden. „Il y a analogie, il n'y a pas identité."

8. Nomenklatur.

Die BORREL'schen Körperchen der Geflügelpocke gehören in die Gruppe der Strongyloplasmen (LIPSCHÜTZ) oder Chlamydozoa (v. PROWAZEK). Man könnte dieses Virus Strongyloplasma avium (BORREL) bezeichnen.

Literatur.

APOLANT, Beitrag zur Histologie der Geflügelpocke. VIRCHOW's Archiv. Bd. 174.

BABES u. PUSCARIU, Untersuchungen über die Diphtherie der Tauben, Zeitschrift für Hygiene und Infekt. 1890.

BECKER, Krankheiten des Geflügels. Berlin.

BENDA, Zelleinschlüsse des Molluscum contagiosum und der Taubenpocke. Centralbl. f. allgem. Pathologie. Bd. 8.

BOLLINGER, Über Epithelioma contagiosum beim Haushuhn und die sog. Pocken des Geflügels, VIRCHOW's Archiv 1873. Bd. 58.

BORDET et FALLY, 14. int. Kongreß für Hygiene und Annal. de l'Institut Pasteur 1910: le microbe de la diphthérie des poules.

BORDET und GENGOU, le microbe de la coqueluche, Annal. de l'Institut Pasteur 1906.

BORREL, Sur les inclusions de l'epithélioma contag. des oiseaux. Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1904.

Derselbe, les épithélioses infectieuses et les épithéliomas. Annal. de l'Inst. Pasteur 1903.

BOSC, les épithéliomas parasitaires und les maladies bryocytiques. Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 34, 37 u. 39.

BURNET, Epithélioma contagieux des oiseaux. Annal. de l'Inst. Pasteur 1906.

CARNWATH, Zur Ätiologie der Hühnerdiphtherie und Geflügelpocken. Arb. aus dem Kais. Gesundheitsamt 1907.

CASAGRANDI, Sulla riproduzione sperimentale dei corpi inclusi nelle cellule epidermiche dei noduli di mollusco contagioso. Rifôrma medica Nr. 265.

CSOKOR, Über den feineren Bau der Geflügelpocke. Vorträge für Tierärzte 1884, Serie 6, H. 11.

DARIER, Annales de dermat. et syphil. 1889.

FALLY, Annales de méd. véter. 1908.

FRIEDBERGER und FRÖHNER, Lehrbuch d. spez. Path. und Ther. der Haustiere. Stuttgart 1904.

HARTMANN, Bericht der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Berlin 1910, Ref. Centr. f. Bakt. 1910.

HAUSER, Bakt. Untersuchungen über Geflügeldiphtherie. Centr. f. Bakt. Bd. 48. 1909.

HEUSINGER, Recherches de path. comparée. Zit. nach BOLLINGER.

HUTYRA und MAREK, Spezielle Path. und Ther. der Haustiere. 1909.

JULIUSBERG, Über das Epithelioma contagiosum von Taube und Huhn. Deutsche med. Woch. 1904.

KITT, Lehrbuch der path. Anat. der Haustiere. 1905.

KRAUS und VOLK, Berichte der Kais. Akad. d. Wissenschaften. Wien 1907.

LIPSCHÜTZ, B., Über mikroskopisch sichtbare, filtrierbare Virusarten. Centr. f. Bakt. Referate Bd. 44. Beiheft.

Derselbe, Über mikroskopisch sichtbare, filtrierbare Virusarten (über Strongyloplasmen). Centr. f. Bakt. 1908. Bd. 48.

Lipschütz, B., Untersuchungen über Epithelioma contagiosum der Vögel. Centr. f. Bakt. 1908. Bd. 46.
Derselbe, Untersuchungen über Molluscum contagiosum. Dermat. Zeitschrift Bd. 14. 1907.
Löffler, Mitteil. des Kais. Gesund. 1884.
Loir und Ducloux, la diphthérie aviaire en Tunisie, Annal. de l'Inst. Pasteur 1894.
Löwenthal, Untersuchungen über die sog. Taubenpocke (Epithelioma contagiosum). Deutsche med. Woch. 1906. Nr. 17.
Manteufel, Beiträge zur Kenntnis der Immunitätserscheinungen bei den sog. Geflüge pocken. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. 1910.
Marx und Sticker, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum des Geflügels. Deutsche med. Woch. 1902.
Dieselben, Weitere Untersuchungen über die Mitigation des Epithel. cont. des Geflügels. Deutsche med. Woch. 1903.
Michaelis, Zeitschrift für Krebsforschung. Bd. 1. 1905.
Mingazzini, Il mollusco contagioso etc. Bull. d. R. Acad. Med. Roma.
Moore, zit. bei Uhlenhuth.
Müller, Reiner, Zur Ätiologie der Geflügeldiphtherie. Centr. f. Bakt. 1906. Bd. 41.
Neisser, Albert, Über das Epithelioma (sive Molluscum) contagiosum. Arch. f. Dermat. 1888.
Derselbe, Über den gegenwärtigen Stand der Psorospermosenlehre. Arch. f. Dermat. 1892.
Nocard und Leclainche, les malad. microb. des animaux.
Pfeiffer, L., Beiträge zur Kenntnis der pathogenen Gregarinen. Zeitschrift f. Hygiene und Infekt. 1889. Bd. 5.
Polowinkin, Beitrag zur pathol. Anatomie der Taubenpocke. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde. Bd. 27.
v. Prowazek und de Beaurepaire, Untersuchungen über die Variola. Münch. med. Woch. 1908. Nr. 44.
Dieselben, Weitere Untersuchungen über Chlamydozoen. Münch. med. Woch. 1909. Nr. 13.
Raynal, zit. nach L. Pfeiffer.
Reischauer, Über die Pocken der Vögel, ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erreger. Centr. f. Bakt. 1906. Bd. 40.
Remlinger, les microbes filtrants. Bull. de l'Inst. Pasteur 1906.
Rivolta und Delprato, L'ornitojatria. 1881.
Salmon, Diseases of poultry. Washington 1899.
Sanfelice, Beitrag zur Ätiologie der sog. Pocken der Tauben. Zeitschrift für Hygiene Bd. 26. 1897.
Schmidt, Gerhard, Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie und Epithelioma contagiosum. Centr. f. Bakt. 1909. Bd. 52.
Schneidemühl, Spezielle Path. u. Ther. der Haustiere. 1908.
Schuberg und Schubotz, Zur Frage der Geflügelpocken. Centr. f. Bakt. 1910 Bd. 47.
Spinola, Handbuch der spez. Pathol. und Therapie für Tierärzte. 1858.
Sticker, Bericht der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Berlin 1910. Ref. Centr. f. Bakt. 1910. Bd. 47.
Tommasoli, Über einen Fall von Epithelioma verrucosum abortivum nebst einem Beitrag zum Studium der Psorospermosen. Arch. f. Dermat. 1894. Bd. 1.
Török, Über die protozoenartigen Gebilde des Carcinoms und der Paget'schen Krankheit. Monatshefte f. prakt. Dermat. 1893.
Uhlenhuth, Bericht der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Wien 1909. Ref. Centr. f. Bakt. Bd. 44.
Uhlenhuth und Manteufel, Neue Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie (Diphtheria avium) und Geflügelpocke (Epithelioma contagiosum). Arbeiten a. d. Kais. Gesundh. 1910.
Vale, Manual of poultry and manual of pigeon diseases London.
Zürn, Krankheiten des Hausgeflügels, Weimar 1882.

Anhang zum Kapitel

„Chlamydozoa-Strongyloplasmen“.

Von

B. Lipschütz.

I.

Über Dermotropismus, Theorie der Pathogenese einiger menschlicher Dermatosen.

Auf Grund vergleichender Untersuchungen von Einzelbeobachtungen bei mehreren tierischen Infektionskrankheiten und des Nachweises ihrer gemeinsamen Merkmale und Eigentümlichkeiten, habe ich den Versuch gemacht eine Theorie der Pathogenese einiger menschlicher Dermatosen aufzustellen. Die Besprechung der gemeinsamen biologischen Vorgänge soll als Arbeitshypothese für die weitere Erforschung dieser Dermatosen dienen.

Anläßlich früherer Untersuchungen über Geflügelpocke war mir die Tatsache aufgefallen, daß in den Parenchymorganen — wie dies bereits Löwenthal (6) und Burnet (1) konstatieren konnten — das hochgradig infektiöse und oft den Tod der Versuchstiere herbeiführende Virus in nicht unbeträchtlichen Mengen enthalten ist, ohne Abwehrreaktionen von Seite des Gewebes hervorzurufen, während das Zusammentreffen des Virus mit der Haut als auslösendes Moment für das Auftreten spezifischer pathologischer Gewebsveränderungen diente. Diese Verhältnisse ließen sich jederzeit außerordentlich leicht experimentell feststellen, indem — nach dem Vorgange Burnet's (1) — Tauben intravenös injiziert wurden und nach 24 Stunden ein geringes Trauma, durch Rupfen der Federn, auf die Haut einwirken gelassen wurde. Die Vogelpocke trat dann ausschließlich in den verletzten Hautstellen auf.

Dieser Tatsache weiter nachgehend, konnten die interessanten Versuche von Calmette und Guérin (2) in den Kreis der Betrachtungen gezogen werden. Diese Autoren konnten nach intravenöser Injektion einer größeren Vaccinemenge in keinem Parenchymorgan der Kaninchen Virus nachweisen, wohl aber gelang es ihnen typische Pustelbildung auf der durch Rasieren verletzten Bauchhaut zu erzeugen.

Paschen (7) und Kelsch (3) konnten die Calmette'schen Angaben nicht bestätigen, positive Resultate erhielten v. Prowazek und Jamamoto (8). Bei intravenös mit Vaccine injizierten Kaninchen traten, nachdem Rücken und Nacken der Tiere mit Calciumhydrosulfit depiliert, mit Sandpapier abgerieben und die Haut scarifiziert worden war, 30 Minuten post injectionem sehr deutliche, nach 4 Stunden konfluierende Hautausschläge auf, nach 24 und 2×24 Stunden waren die Hautaffektionen geringer. Indem jedesmal mit dem Eiter eine Kaninchenkornea abgeimpft wurde, konnte der Nachweis geführt werden, daß es sich bei den Hauteruptionen um Vaccine gehandelt hatte. Aus diesem Versuch und aus Untersuchungen, die den Nachweis des Virus in den Parenchymorganen zu erbringen hatten, kommen die Autoren zu folgender Schlußfolgerung: das Vaccinevirus verschwindet bei intravenös injizierten Kaninchen nach

1 Stunde aus dem Blutstrom, nach 2 Stunden aus dem Knochenmark, es lebt aber noch 2 Tage in den Hautdecken, behält seine Virulenz bei, ist jedoch nicht imstande ohne Eröffnung der Hautdecke eine Eruption zu erzeugen. „Das Vaccinevirus ist demnach ein rein epidermales Virus, das zu seiner Entwicklung des Epithels bedarf.“

Auch bei der Variola konnten v. Prowazek und de Beaurepaire (9) eine Reihe interessanter Beobachtungen machen, die hier Erwähnung finden müssen. Das Variolavirus kreist im Blut in geringen Mengen und wird alsbald in den Zellen der Haut deponiert. Impfungen mit Blut, Milz-, Leber- und Nierenextrakten von konfluierender und hämorrhagischer Variola auf die Kaninchenkornea oder auf die rasierte Bauchhaut der Kaninchen lieferten entweder zweifelhafte oder in der Mehrzahl der Fälle negative Resultate. Es scheint also, daß auch das Variolavirus bloß in der Haut günstige Bedingungen für seine weitere Entwicklung vorfindet.

Mit den bei der Taubenpocke und Vaccine gesammelten Erfahrungen schien, beim weiteren Studium der Literatur, das mir bereits vor Jahren aufgefallene eigentümliche Verhalten des Virus der Maul- und Klauenseuche gut übereinzustimmen.

Nach den klassischen Versuchen von Löffler und Frosch (5) treten bei intravenös mit dem Virus der Maul- und Klauenseuche injizierten Tieren, unter Fiebererscheinungen, in 1—3 Tagen Blasen zuerst im Maul und, bei den Milchkühen, in den Eutern auf. Einen bis zwei Tage später treten die Blasen an den Klauen auf. Diese ungemein virushaltigen Blasen entstehen somit durch das im Blut kreisende Virus und nicht durch direkte Infektion von der Haut aus. Von großem Interesse ist nun die von Löffler und Frosch (5) sichergestellte Tatsache, daß mit dem Auftreten der Blasen das Virus aus der Blutbahn verschwindet. Konnte man beispielsweise mit $^1/_{50}$ cm^3 der Blasenflüssigkeit Tiere in typischer Weise infizieren, so bedurfte es der Überführung einer 2500 bis 5000 fach größeren Blutsmenge erkrankter Tiere, um die Affektion bei gesunden Tieren hervorzurufen. Das Virus verschwindet also fast in seiner gesamten Menge aus der Blutbahn und wird an den Hautstellen, an welchen die Blasenbildung erfolgt, ausgeschieden.

Aus den angeführten Beobachtungen bei Taubenpocke, Vaccine-Variola und Maul- und Klauenseuche konnten zunächst folgende zwei Schlußfolgerungen gezogen werden:

1. Es gibt Infektionserreger, die zwar in einem gewissen Zeitpunkt den Organismus durchseuchen, jedoch infolge einer spezifischen, maximal gesteigerten Avidität zum Hautorgan bloß in letzterem krankhafte Veränderungen des Gewebes durch ihre Anwesenheit und Vermehrung hervorrufen können. Diesen Vorgang habe ich Dermotropismus genannt.

2. Die dermotropen Erreger sind in den Parenchymorganen entweder bloß äußerst kurze Zeit nach der experimentellen Infektion und in verschwindend geringen Mengen und später überhaupt nicht mehr nachweisbar, — oder sie sind zwar in den Parenchymorganen in nicht unbeträchtlichen Mengen enthalten, können aber — infolge ihres Dermotropismus — daselbst keine krankhafte Schädigung des Gewebes veranlassen. Als Ursache dafür, dürfen wir wohl annehmen, daß bloß im Hautorgan gewisse für das Gedeihen dermotroper Erreger notwendigen Nährstoffe enthalten sind, daß also in den Parenchymorganen, wie sich Ehrlich ausdrückt, „die Bedingungen der Athrepsie vorherrschend sind“.[1])

[1]) Außer den bisher angeführten dermotropen Infektionserregern, kennen wir pathogene Mikroorganismen, denen zwar ausschließlich die Haut zur primären Haftung im menschlichen (und wahrscheinlich auch im tierischen) Organismus dient, später aber erfährt das Virus eine Generalisierung im Körper und bedingt an verschiedenen Stellen das Auftreten pathologischer

Der Dermotropismus einer bestimmten Gruppe von Mikroorganismen läßt sich ungezwungen in den großen Rahmen wohl bekannter Tatsachen der Immunitätslehre einreihen, bei denen ebenfalls spezifisch gesteigerte Aviditäten von Mikroben, Toxinen oder Zellen zu verschiedenen Geweben des Organismus nachweisbar sind.

Die Betonung des Begriffes „Dermotropismus" und die Würdigung seiner Bedeutung diente mir dazu, eine Förderung unserer Kenntnisse von der Pathogenese menschlicher weit verbreiteter, zum Teil schwerer oder selbst tötlich verlaufender Dermatosen zu versuchen.

Für die gleich zu schildernde Auffassung war das Vorhandensein der von Calmette und Guerin (2), v. Prowazek bei der Vaccine (9), von Burnet (1) und Lipschütz (4) bei der Taubenpocke nachgewiesenen spezifischen „Reizphänomene" der Haut und ihre Analogisierung mit aus der Pathologie menschlicher Dermatosen bekannten ähnlichen Erscheinungen maßgebend. Bei den erwähnten tierischen Affektionen konnte, bei intravenös injizierten Tieren, durch eine leichte mechanische Hautreizung das typische Krankheitsbild erzeugt werden.

Bei der Psoriasis vulgaris ist es nicht nur klinisch sichergestellt, daß die Krankheit sich mit Vorliebe an gereizten Körperstellen lokalisiert, sondern es gelang Köbner durch Ritzen der Haut das Auftreten von genau an und in der Form der verletzten Hautstellen lokalisierten Psoriasiseffloreszenzen zu provozieren.

Vollkommen analoge klinische Beobachtungen und experimentelle Tatsachen liegen bei Lichen ruber planus vor und eine Reihe von Beobachtungen sprechen dafür, daß auch bei gewissen Pemphigusformen die Blasen meist an mechanisch gereizten Hautstellen aufzutreten pflegen.

Alle diese Reizphänomene der Haut — bei Vaccine der Kaninchen, bei Epithelioma contagiosum der Tauben, bei Psoriaris vulgaris und Lichen ruber planus (bei Pemphigus chronicus kann die Frage bezüglich des zweiten Punktes aus klinischen Gründen vorläufig nicht entschieden werden) — sind durch folgende gemeinsame Momente ausgezeichnet:

1. Ihr Auftreten erfolgt nicht unmittelbar im Anschluß an den gesetzten Hautreiz, sondern nach Verstreichen einer mehrere — meist 10 Tage — betragenden Inkubationszeit.

2. Auftreten von klinisch und histologisch wohl charakterisierten, mit der spontan entstandenen Hautaffektion vollkommen übereinstimmenden Effloreszenzen.

3. Sie sind nur bei bereits infizierten Tieren, beziehungsweise an der betreffenden Dermatose erkrankten Menschen hervorzurufen.

Auf Grund der Gleichstellung der hier besprochenen Hautphänomene, konnte ich auch bei den erwähnten menschlichen Dermatosen Dermotropismus ihres Virus supponieren. Eine Reihe klinischer Tatsachen, wie die pandemische Ausbreitung der Psoriasis vulgaris und des Lichen planus, die Histologie der Affektionen u. a. m. sprechen der parasitären Auffassung das Wort und werden an anderem Ort ausführlich abgehandelt werden. Hier muß betont werden, daß beide Affektionen, auf Grund klinischer Beobachtungen nur als endogen entstehende Krankheiten auf-

---

Veränderungen. Hierher gehört die Syphilisspirochaete. Nach den Untersuchungen von Neisser wissen wir, daß subkutan oder intraperitoneal mit großen Mengen von Syphilisvirus geimpfte Affen weder infiziert, noch immunisiert werden können, während die kutane Impfung vorwiegend an der Haut der Augenbrauen und des Penis zur Haftung führt. Derartige Mikroorganismen können nicht als dermotrop im Sinne unserer Ausführungen bezeichnet werden.

gefaßt werden können, bei denen jedoch bloß Störungen von Seite des Hautorgans klinisch nachgewiesen werden können.

Mit der Theorie des Dermotropismus lassen sich ungezwungen sowohl das Verschontsein der inneren Organe, als auch die Erzeugung der Psoriasis factitia (und des Lichen ruber factitius) erklären; die Theorie gewinnt an Wahrscheinlichkeit durch den erbrachten Nachweis einer Reihe vollkommen analoger Tatsachen bei tierischen Infektionskrankheiten, bei denen, trotz Durchseuchung des Organismus, bloß ein Organ, und zwar die Haut, erkrankt erscheint.

II.

Mikroskopische Befunde bei einigen menschlichen Dermatosen.

Auf Anregung des Herausgebers dieses Handbuches sollen in Kürze einige mikroskopische Befunde, die ich (4) in den letzten Jahren bei Psoriasis vulgaris und bei Pemphigus chronicus erheben konnte, Erwähnung finden. Ein abschließendes Urteil über die Bedeutung dieser Befunde kann vorläufig nicht gegeben werden; die mikroskopischen Bilder sowie gewisse theoretische Überlegungen scheinen die parasitäre Natur der Befunde bis zu einem gewissen Grad wahrscheinlich zu machen.

A. Mikroskopische Befunde bei Pemphigus chronicus. Im sterilen Blaseninhalt mehrerer Pemphiguskranken gelang es in wechselnder Zahl, je nach Größe und Alter der Blasen und teilweise auch von der Art der Materialsentnahme abhängig, Gebilde nachzuweisen, die mit Rücksicht auf ihren Fundort als Zystoplasmen bezeichnet wurden. Sie sind nach Giemsa's feuchter Methode, sowie auch nach vorausgegangener Sublimatalkoholfixtion, mit Delafieldschem Hämatoxylin färbbar (siehe Tafel V).

Morphologisch konnten nebst länglichen und ei- oder birnförmigen Gebilden, auch solche von rundlich-kugeliger Gestalt unterschieden werden. Die Teilung der stets extrazellulär gelegenen Zystoplasmen erfolgt durch eine hantelförmige Zerschnürung, wobei ein schwächer färbbares Zwischenstück hervortritt. Die Größe beträgt 0,6—1,5 μ für den Längendurchmesser, etwa 0,4 für den Breitendurchmesser. Von den in Pemphigusblasen reichlich vorkommenden eosinophilen Granula sind sie sowohl durch ihre Größe und extrazelluläre Lage, als auch durch ihre tiefdunkelrote Färbung leicht zu trennen. In der Annahme, daß diese Gebilde einer selbständigen Mikroorganismenart entsprechen, wurde der Name Cystoplasma oviforme vorgeschlagen. Über ihre Stellung im System konnte v. Prowazek (nach einer persönlichen Mitteilung) zu keinem abschließenden Urteil gelangen.

In manchen Pemphigusblasen gelang es ferner kleine Gebilde festzustellen, die, im Gegensatz zum monochromatisch gefärbten Cystoplasma, ein hellblaues Plasmaklümpchen aufwiesen, an dessen Peripherie, an den entgegengesetzten Enden, zwei ungleich große dunkelrote Chromatinkörnchen saßen; sie gewannen dadurch Ähnlichkeit mit Piroplasmen.

Schließlich seien, der Vollständigkeit halber, noch große, sporenartige Gebilde, die einige Male in beträchtlicher Zahl angetroffen wurden, erwähnt; sie vermehren sich durch Sprossung, besitzen keinerlei Zusammengehörigkeit mit den Zystoplasmen und sind vielleicht bloß als Verunreinigungen des Blaseninhaltes zu betrachten.

B. Über einen mikroskopischen Befund bei Psoriasis vulgaris. In Tupf- und Ausstrichpräparaten des erkrankten Rete Malpighi wurde mit der Löffler'schen Geißelfärbungsmethode eine außerordentlich große Anzahl kleinster

Körperchen nachgewiesen, die sich durch folgende Einzelheiten charakterisieren: 1. sie erscheinen in überwiegender Zahl in Form scharf konturierter, rundlicher Körperchen, die einzeln, in Diploform und manchmal auch in kurzen Ketten angeordnet sind; 2. die Teilung erfolgt durch eine Art hantelförmiger Zerschnürung; 3. sie sind unter $^1/_4\,\mu$ groß, also kleiner als die Strongyloplasmen der Taubenpocke und selbst kleiner als die Elementarkörperchen der Variola (v. PROWAZEK und ARAGAO); 4. sie sind schwer färbbar, nach LÖFFLER nehmen sie einen schwachroten Farbenton an (siehe Tafel V). Im Schnitt sind sie in enormen Mengen in den erkrankten Retezellen nach HEIDENHAIN nachweisbar.

Da, wie bereits erwähnt, dem bei der Psoriasis vulgaris vorkommenden KÖBNERschen Phänomen (Psoriasis factitia) gleichwertige klinische und pathogenetische Dignität mit den aus dem Studium dermotroper Erreger (Vaccine-Variola, Taubenpocke) bekannten Reizphänomenen der Haut zukommen dürfte, wurde auch Dermotropismus des Psoriasisvirus supponiert. Durch die gewonnenen Befunde scheint meine Arbeitshypothese eine Stütze zu finden, indem die bei Psoriasis mikroskopisch nachgewiesenen Gebilde den bei dermotropen Erregern gemachten Befunden morphologisch und tinktoriell sehr nahe stehen. Selbstverständlich ist jedoch in dieser Frage noch nicht das letzte Wort gesprochen worden.

Literatur.

1. BURNET, Annal. de l'Inst Past. 1906.
2. CALMETTE u. GUÉRIN, Annal. de l'Inst. Past. 1901.
3. KELSCH, Revue d'Hygiene 1908.
4. LIPSCHÜTZ, Centr. f. Bakt. 1908. Wien. klin. Woch. 1910. Nr. 14 und Nr. 26.
5. LÖFFLER u. FROSCH, Centr. f. Bakt. 1898.
6. LÖWENTHAL, Deutsch. med. Woch. 1907.
7. PASCHEN, Münch. med. Woch. 1906.
8. v. PROWAZEK u. JAMAMOTO, Deutsch. med. Woch. 1909. Nr. 51.
9. v. PROWAZEK u. DE BEAUREPAIRE, Variolauntersuchungen 1909.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel V.

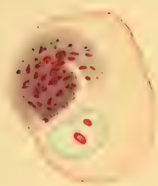
Die obere Reihe (Fig. 1 bis 4) stellt Präparate von *Molluscum contagiosum* dar. Fig. 1, 2 und 3 Färbung nach PAPPENHEIM, Alkoholfixation, Vergrößerung LEITZ'sches Mikroskop $^1/_{12}$ Oelimmersion, Okular 4. Fig. 4 Fixation in Sublimatalkohol, feuchte GIEMSAfärbung, Zeichnung mit Okular 8.

Die ersten 3 Figuren stellen plastinartige Reaktionsprodukte der Zelle, Fig. 4 stellt eine geblähte von „Elementarkörperchen" des Molluscum contagiosum ganz durchsetzte Retezelle dar.

Die Zeichnungen der mittleren Reihe zeigen verschiedenartige Einschlußgebilde bei „Taubenpocke". Fig. 1, 2 u. 3 stellen die „Geflügelpockenkörperchen" in verschiedener Ausbildung dar, Fixation in Sublimatalkohol, Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. Fig. 4 u. 5: Benda'sche Körperchen (nach Apolant).

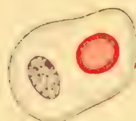
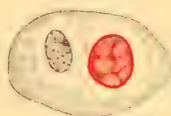
Untere Reihe: Fig. 1: Mikroskopischer Befund bei *Pemphigus vulgaris (Cystoplasmen).* Feuchte Fixation in Sublimatalkohol, Giemsafärbung, 1000fache Vergrößerung. Fig. 2: Mikroskopischer Befund bei *Psoriasis vulgaris (Strongyloplasmen?).* Löffler's Geißelfärbung, 1000fache Vergrößerung. Alles Nähere ist dem Text zu entnehmen.

1 2 3 4



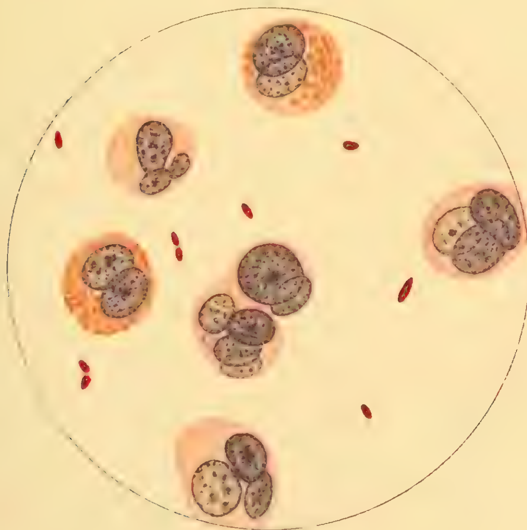



1 2 3 4 5

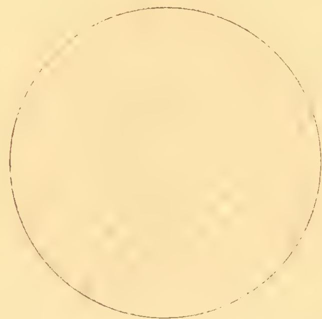






1



2.



K. Sikora del. Verlag von Johann Ambrosius Barth. Leipzig Lit. Tacchinardi e Ferrari-Pavia

Pathogene Trypanosomen.

Von

Martin Mayer (Hamburg).

Mit einer farbigen Tafel.

Systematisches.

Nach der von den meisten Autoren noch angewandten Systematik Doflein's bilden die Trypanosomidae eine der 8 Familien der Ordnung Protomonadina:

Protozoa: I. Unterstamm *Plasmodroma*
I. Klasse *Mastigophora*
I. Unterklasse *Flagellata*
I. Ordnung *Protomonadina*
Familie: *Trypanosomidae.*

Doflein selbst gibt neuerdings an, daß in absehbarer Zeit eine Neueinteilung stattfinden müsse, hält die Frage aber noch nicht für genügend geklärt.

Dagegen hat Hartmann vor einiger Zeit das System der Protozoen einer Revision unterzogen und dabei eine einschneidende Änderung vorgenommen. Er hebt die Klasse der Sporozoen auf, indem er ihre beiden Unterklassen Telosporidia und Neosporidia als dritte und vierte Klasse der Plasmodromen einführt. Dafür vereinigt er in der Klasse der Mastigophoren in der Unterklasse der Flagellaten die Trypanosomen und Hämosporidien zu einer selbständigen Ordnung der Binucleata, der er und seine Schüler noch verschiedene — zum Teil freilebende — Flagellaten zugeteilt haben.

Die nächsten Jahre werden zeigen müssen, ob nicht durch das Auffinden ganz heterogener „Binucleata" die Einheitlichkeit dieser Ordnung durchbrochen werden muß. Ganz widerspruchslos kann sie zurzeit noch nicht angenommen werden.

Der Gattungsname Trypanosoma, 1843 von Gruby für das Froschtrypanosoma aufgestellt, wurde 1901 von Laveran und Mesnil sowie Doflein für alle Trypanosomen übernommen. Lühe (105) trennte 1906 die Warmblütertrypanosomen von denen der Kaltblüter ab und schuf für sie die Gattung Trypanozoon, aber bereits 1908 hat er die Gattung selbst wieder stillschweigend fallen lassen (15). Bis die gerade im Flusse befindliche genaue Erforschung der Entwicklungskreise abgeschlossen ist, wird eine Neueinteilung zweckmäßig unterbleiben müssen.

Allgemeiner Aufbau der Trypanosomen.

Die Trypanosomen sind Flagellaten von gewöhnlich spindelförmiger Gestalt, seitlich mit einer undulierenden Membran versehen, deren Randfaden an einem Körperende sich meist als freie Geißel fortsetzt. Die Länge der Geißel schwankt beträchtlich und vielfach endet der Randfaden nicht frei, sondern noch innerhalb des Zellkörpers.

Im ungefärbten Präparate erkennt man stets 2 stark lichtbrechende Körper, einen größeren ungefähr in der Mitte liegenden, der dem Hauptkern entspricht und einen kleinen nahe dem dem Geißelende entgegengesetzten Körperende liegenden, den sog. Blepharoplasten.

Bei frischer Beobachtung lassen sich sonst nicht sehr viele Details erkennen; vielfach erkennt man aber außer den angeführten Kernen noch zahlreiche lichtbrechende Körnchen im sonst homogen erscheinenden Protoplasma.

Bei Betrachtung der Bewegung läßt sich beobachten, daß dabei 2 verschiedene Momente in Betracht kommen. Einmal ist der Körper selbst offenbar imstande Kontraktionsbewegungen auszuführen, die teilweise Zusammenziehungen und leichte Spiraldrehungen gestatten; andererseits aber erfolgt durch die undulierende Membran und die Geißel eine andere Art der Bewegung. Nach v. PROWAZEK (142) beginnt diese mit einem leichten Wellenberg in der Nähe der Geißelwurzel und erreicht ungefähr im zweiten Drittel des Körpers die höchste Bewegungsenergie, um hernach gegen das freie Ende nach Art der Bewegung eines Wimpelendes leise abzuklingen. Die Bewegung ist demnach eine Kombination der Körperkontraktionen und der Bewegung der undulierenden Membran bzw. der Geißel.

Wenn auch die Bewegung meist in der Richtung des Geißelendes erfolgt, so kommen doch auch umgekehrte Bewegungen vor. Daß aber das Geißelende trotzdem als das vordere Körperende anzusehen ist, geht aus den entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen SCHAUDINN's und v. PROWAZEK's hervor, indem nämlich der Blepharoplast, der aus dem Hauptkern entsteht, auch in der Richtung des Geißelendes heraustritt, um erst später nach dem entgegengesetzten Körperende verlagert zu werden.

Um weitere morphologische Studien an den Trypanosomen zu machen, ist es nötig, gefärbte Präparate zu untersuchen. Die gebräuchlichen Methoden der Fixierung und Färbung sind ja im Kapitel „Technik" ausführlich besprochen.

Auch zur Untersuchung der Trypanosomen ist die gewöhnlichste Art die ROMANOWSKY-Färbung, meist in der GIEMSA'schen Methode angewandt an trockenen Präparaten.

Zum Studium der genauen Kerndetails genügt diese aber nicht und dafür ist die Untersuchung feuchtfixierter Präparate notwendig. Die Färbung dieser erfolgt zweckmäßig nach der HEIDENHAIN'schen Methode, oder nach deren Vereinfachung nach ROSENBUSCH (148); auch BREINL hat eine Modifikation derselben angegeben. Neuerdings hat auch GIEMSA seine Methode für die Färbung von Feuchtpräparaten ausgearbeitet. Speziell für Trypanosomen bestimmt ist eine Methode von SALVIN-MOORE und BREINL (154) (Anilin-Safranin, polychromes Methylenblau, Orangetannin) und die von MINCHIN (121) benutzte TWORT'sche Färbung.

Den Abbildungen nach bieten die letzteren aber keine besonderen Vorteile und konnten sich wegen ihrer Kompliziertheit nicht einbürgern.

Viel umstritten wurde neuerdings die Frage, ob Trocken- oder Feuchtfixierung vorzuziehen sei. Verf. kann sich den Bedenken MINCHIN's, SWELLENGREBEL's (182) und TOBEY's (186) auf Grund eigener Beobachtungen nur anschließen, nämlich daß die Plasmastrukturen bei der feuchten Fixierung verändert werden und so falsche Bilder vorgetäuscht werden. Dagegen ist die feuchte Methode unbedingt immer mit

heranzuziehen, wenn es sich um Feststellung von Kernstrukturen handelt. Nach meinen Erfahrungen kommen wir mit den vorhandenen oben kurz skizzierten Methoden vollkommen aus. Hauptbedingung ist nur, daß bei den Präparaten der nötige Färbegrad (besonders bei Feuchtpräparaten) genügend sorgfältig herausdifferenziert wird.

Für Trocken- wie Feuchtpräparate von Trypanosomen hat sich mir mehrfach die Differenzierung etwas überfärbter Präparate durch Sonnen- bzw. künstliches Licht gut bewährt; besonders die Plasmadifferenzierungen (Periplast und Protoplasma) lassen sich so sehr schön darstellen; häufige Kontrolle der Präparate bis zur gewünschten Abblassung ist notwendig.

Mit den verschiedenen Methoden lassen sich an den Trypanosomen bezüglich des Aufbaues dann folgende Teile unterscheiden.

I. Eine Hülle, Periplast (Pellicula) umgibt den Zellkörper, sie läßt sich am besten mit der Giemsa-Färbung an Trockenpräparaten darstellen und erscheint dann in rötlichem Ton. Bei Trypanosomen mit Vakuolen im Protoplasma sieht man sie an diesen Stellen deutlich freiliegen. Durch mechanische Schädigung, wie starken Deckglasdruck, kann man das Protoplasma zum Ausfließen bringen und dann diese Hülle färberisch gut sichtbar machen. Schon das färberische Verhalten spricht dafür, daß der Periplast ein Kernderivat ist. Noch wahrscheinlicher machen dies Verdauungsversuche v. Prowazek's (l. c.) bei *Trypanosoma brucei* und Experimente Siebert's (167) mit 20 % Kochsalzlösung und 10 % Saponin bei demselben Trypanosom bzw. *Trypanosoma equiperdum*. Auch bei absterbenden Trypanosomen bleibt neben den Kernen und der Geißel die Periplastsubstanz noch lange färberisch darstellbar.

II. Das Protoplasma der Trypanosomen, Endoplasma verschiedener Autoren, ist von alveolärer Struktur und zwar bald feiner bald gröber alveolär. Auf den Knotenpunkten des Gerüstes trägt es oft feine Granulationen, die wahrscheinlich Kernsubstanz (Chromidien) entsprechen. Nach Prowazek's Untersuchungen an *Trypanosoma lewisi* ist es namentlich bei jungen Individuen feiner strukturiert; nach meinen Beobachtungen erscheint es oft während der Zellteilung besonders grob alveolär. Dieser Bau kennzeichnet sich bei Giemsa-Färbung durch helle Stellen im blau gefärbten Plasma. Der Farbenton erscheint auch manchmal rötlich. In älteren Individuen treten häufig Entmischungsvorgänge im Protoplasma auf, so daß nur schmale inselförmige Territorien gefärbt erscheinen neben größeren Lakunen, die mit Flüssigkeit gefüllt sein dürften. Bei feuchtfixierten Präparaten wird oft ein viel grobmaschigerer Bau vorgetäuscht, als er es in Wirklichkeit ist.

Der Färbegrad variiert auch bei verschiedenen Individuen der gleichen Art und im gleichen Präparat sehr stark und hat zusammen mit anderen Verschiedenheiten des Baues und der Kerne zur Annahme von Geschlechtsdifferenzen geführt (s. später).

Grobe Granula im Protoplasma kommen sehr häufig bei Trypanosomen vor. Sie sind bald derber, bald feiner und sehr wechselnd in ihrer Anzahl. Sicher ist, daß einzelne Trypanosomenarten vielmehr zur Granulabildung neigen als andere. Die Lagerung der Granula ist bald vor, bald hinter dem Kern. Bei Giemsa-Färbung erscheinen sie rötlich bis schwärzlich, mit Eisenhämatoxylin konnten sie Salvin-Moore und Breinl nicht zur Darstellung bringen.

Diese Granula hat Swellengrebel (181) genauer studiert und gefunden, daß sie alle Volutinreaktionen Guillermond's und A. Mayer's geben. Er hat ferner einen Zusammenhang dieser Gebilde mit einem „Axialfaden" (s. später) festgestellt, der von Robertson und Salvin-Moore und Breinl als achromatisch beschrieben war, den er aber bei intensiver Färbung mit Kernfarbstoff darstellen konnte. Auch Salvin-Moore und Breinl haben einen Zerfall dieses Axialfadens beobachtet. Man sieht

tatsächlich häufig bei manchen Trypanosomen wie Granula genau in einer Linie bald vor, bald hinter dem Kern aufgereiht sind (s. Textfig. 1, Seite 254). Bei anderen Trypanosomen sind sie aber dauernd ganz regellos angeordnet.

Die Bedeutung dieser Granula ist noch nicht ganz klar; während Salvin-Moore und Breinl jeden Zusammenhang dieser Gebilde — im Gegensatz zu den ganz feinen oben erwähnten Granulationen des Gerüstnetzes — mit dem Kern ablehnen, hält Swellengrebel einen Zusammenhang mit diesem wegen ihrer Genese und der Volutinnatur für sehr wahrscheinlich. Er glaubt, daß es Trypanosomen im Stadium der Degeneration sind, die solche Granula enthalten. Sie scheinen in bestimmten Zeiten der Infektion bei manchen Trypanosomen regelmäßig aufzutreten; nach meinen Erfahrungen gibt es Trypanosomenstämme, die in gewissen Tierpassagen Granula fast niemals vermissen lassen, z. B. Stämme von *Trypanosoma gambiense*.

III. Der Kern der Trypanosomen, bei dem am ungefärbten Präparate kaum Details, es sei denn zentral eine etwas granuliert erscheinende Zone, sich erkennen lassen, ist mit den oben erwähnten verschiedenen Methoden in seiner Struktur genau zu erkennen. Es ist, wie gesagt, meist Übungssache des Untersuchers, den hierzu nötigen Färbegrad zu erreichen.

An dem gefärbten Kerne lassen sich unterscheiden:

1. Der Innenkörper, das Karyosom; es besteht teils aus Chromatin, teils aus Plastin. Es ist nicht in allen Stadien gleich gut ausgebildet. Bei Giemsa-Färbung erscheint es rotviolett, bei Eisenhämatoxylinfärbung schwärzlich. Bei funktioneller Ruhe ist es rund. Manchmal, besonders gut bei feuchtfixierten Giemsa-Präparaten zeigt sich, daß der zentrale Teil des Innenkörpers sich nicht rotviolett, sondern blau färbt; an der betreffenden Stelle würde sich nach v. Prowazek kein Chromatin, sondern nur Plastin befinden. An der Zellteilung (s. später) nimmt auch das Karyosom teil. Öfters ist im Zentrum des Karyosoms — besonders in den Anfangsstadien der Teilung — noch ein dunkler gefärbtes Körnchen, das Centriol zu erkennen.

2. Eine achromatische, alveolare Struktur umgibt den Innenkörper; dieses Liningerüst verdichtet sich meist peripherisch zu einer Art Kernmembran.

3. Kernchromatin ist an den Knotenpunkten des Liningerüstes eingelagert, das bald staubartig verteilt, bald zu gröberen Partikeln „Chromatinkörnern" oder „Chromatinstäbchen" zusammengeklumpt ist. Nach Schaudinn, v. Prowazek u. a. ist dabei für Flagellaten die 8-Zahl der Chromosome besonders charakteristisch. Das Kernchromatin ist es, das bei der Romanowsky-Färbung die typische Kernfärbung bedingt.

IV. Der zweite Kern der Trypanosomen wird fast von allen Autoren heute als Blepharoplast bezeichnet; die früher gebrauchten Bezeichnungen waren hauptsächlich Nucleolus, Micronucleus, Centrosom, Kinetonucleus, Geißelwurzel.

Im ungefärbten Präparat erscheint der Blepharoplast als glänzendes, etwas grünlich schimmerndes Korn; mit Neutralrot färbt er sich manchmal intravital blaßrosa. Bei Giemsa-Färbung färbt er sich meist viel dunkler als der Hauptkern und nimmt einen violettroten Farbton an. Seine Größe und Form schwankt bei den einzelnen Trypanosomen auch in den nicht zur Teilung schreitenden Parasiten sehr. Bei manchen erscheint er rund und sehr klein (z. B. *Trypanosoma equinum*), bei anderen vielfach länglich eventuell stäbchenförmig; dabei ist er oft in der Mitte gegen das Vorderende zu etwas eingebuchtet und zumeist quer und etwas schief gestellt. Nach Prowazek verdichtet er sich später mehr, rundet sich ab und besitzt in älteren Stadien, da sein Karyosom bereits geteilt ist, eine dreilappige Gestalt. (Beginn der Teilung.) v. Prowazek fand nämlich in besonders geeigneten, etwas gepreßten Objekten im Blepharoplast

zentralwärts noch ein Korn, das er als Karyosom des Blepharoplasten anspricht. Rosenbusch hat in seinen „Trypanosomen-Studien" den Aufbau des Blepharoplasten an Präparaten nach der modifizierten Heidenhain-Färbung genauer studiert. Nach ihm besteht er „aus einem kompakten, intensiv gefärbten Korn, das dem Karyosom des Hauptkernes vergleichbar ist und das man als Binnenkörper des Blepharoplastenkernes bezeichnen könnte. Dieses Korn wurde bisher allein als Blepharoplast bezeichnet, doch ist es nur ein Teil des Kernes, wie es das Karyosom des Hauptkernes auch ist. Um ihn liegt gleichfalls eine helle Zone oft mit einem Liningerüst, das auch manchmal Chromatinkörnchen besitzt, eine Art feine Membran trennt diesen zweiten Kern vom Plasma. Die helle Zone ist bisher meist als Vakuole beschrieben worden".

Schon durch die Feststellungen Rosenbusch's erhält die Ansicht, daß der Blepharoplast Kernnatur besitzt, eine wesentliche Stütze; durch den Nachweis aber, daß er sich mitotisch teilt, ist ihm dieser Beweis endgültig gelungen (s. Textfig. 2),

Es sei hier erwähnt, daß es Werbitzki, einem Schüler Ehrlich's, durch gewisse Medikamente gelang, den Blepharoplast bei *Trypanosoma brucei* durch zahlreiche Passagen zum Verschwinden zu bringen (s. Seite 316).

V. Ein Basalkorn an dem Ursprung der Geißel (Geißelwurzel) ist nur in seltenen Fällen erkennbar, meist nur als Verdickung dieses Geißelendes. Es ist hervorgegangen durch eine heteropole Teilung des Blepharoplasten und aus ihm selbst ist durch eine weitere Teilung die Randgeißel der undulierenden Membran entstanden (Textfig. 2 Seite 255).

VI. Die Saumgeißel erscheint im ungefärbten Präparate grünlich, bei Giemsa-Färbung rot. Sie reicht bei ihr nicht bis dicht an den gefärbten Teil des Blepharoplasten heran; da aber der freiliegende helle Raum nach den oben angeführten Untersuchungen Rosenbusch's zum Blepharoplasten gehört, ist dieser Zwischenraum nur ein scheinbarer. Die Geißel endet stumpf; bei den meisten Trypanosomen scheinbar als freie Geißel, in Wirklichkeit dürfte sie aber meist noch vollständig in einer Periplasthülle liegen.

VII. Die undulierende Membran, deren Randfaden die Geißel bildet, ist im wesentlichen eine doppelte Periplastlamelle, die mehr oder weniger stark ausgebildet ist.

VIII. Ein Fibrillensystem, das mit dem Blepharoplasten in genetischem Zusammenhange steht, wie v. Prowazek gezeigt hat, läßt sich meist nur ausnahmsweise — an jungen oder an macerierten Exemplaren — zur Darstellung bringen. Es steht mit der Regulierung der Bewegung in Beziehung. Minchin und Swellengrebel bezweifeln die Gebilde und letzterer neigt der Ansicht zu, daß es sich um Falten des Periplastes handele. Den Abbildungen v. Prowazek's nach erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß es sich zum Teil um den „Axialfaden" handelt.

IX. Der Axialfaden (black line), der bereits oben kurz erwähnt worden, ist zuerst von Robertson (145) und Salvin-Moore und Breinl (154) als achromatisch beschrieben worden, und zwar bei *Trypanosoma brucei* und *gambiense*. Später gelang letzteren seine färberische Darstellung und vor allem Swellengrebel (180 und 181) konnte ihn bei obigen Trypanosomen und bei *Trypanosoma equinum*, später auch bei *Trypanosoma lewisi* durch starke Giemsa-Färbung oder solche nach Heidenhain und mit Methylen- bzw. Toluidinblau darstellen. Die Bedeutung dieses Gebildes ist noch nicht ganz aufgeklärt. Salvin-Moore und Breinl und Swellengrebel stimmen betreffs seiner Beschreibung im wesentlichen überein. Der Axialfaden tritt zuerst deutlich zur Zeit der Höhe der Blutinfektion auf, und zwar scheint er aus dem Blepharoplast hervorzugehen, wächst dann in den Kern hinein und evtl. durch ihn durch bis zum Vorderende. Manchmal zeigt er unregelmäßige Windungen. Während er zuerst homogen, bandartig erscheint, ungefähr doppelt so dick als die Geißel, zeigt er all-

mählich einen körnigen Zerfall, um dann ganz zu schwinden. Swellengrebel hat gezeigt, daß in der Partie, die innerhalb des Kernes liegt, rote Körner entstehen, die dann längs des Fadens den Kern verlassen und sich im Protoplasma zerstreuen. Sie stellen dann die oben beschriebenen Granulationen dar, deren Volutinnatur Swellengrebel gezeigt hat.



Fig. 1. Der „Axialfaden" und sein Zerfall in Granula. *a* und *b Trypanosoma equinum.* *c—e Trypanosoma gambiense.* Nach Swellengrebel.

Die beigefügte Textfigur 1 erklärt die Befunde (s. auch Textfig. 11). Neuerdings gibt Hindle (61) in einer Studie über *Trypanosoma gambiense* nähere Angaben über das Verhalten des Axialfadens bei der Degeneration der Trypanosomen (Zerfall in Granula); die Ansicht, daß er zum Teil innerhalb des Kernes liegt, teilt er nicht und glaubt nur an eine zufällige Auflagerung bei der Präparation.

Die Teilung der Trypanosomen.

Die meisten pathogenen Trypanosomen vermehren sich nach dem Typus der Zweiteilung. Eine multiple Teilung mit komplizierten Verhältnissen kommt lediglich bei *Trypanosoma lewisi* vor und soll bei diesem besprochen werden.

Auf der Höhe der Infektion sieht man stets zahlreiche Trypanosomen in allen Stadien der Zweiteilung. Ganz vereinzelt findet man auch Drei- und Vierteilungen, die aber in Wirklichkeit nichts anderes als successive Zweiteilungen sind, bei denen es nicht zu einer rechtzeitigen Trennung des Protoplasmas kam. Diese offenbar atypischen Formen kann man auch besonders häufig in überlebendem Blute in vitro beobachten.

Die Teilung, die von einer Reihe von Autoren eingehender studiert worden ist und über deren Einzelheiten — insbesondere auch wegen der noch bestrittenen Kernnatur des Blepharoplasten — noch Meinungsverschiedenheiten bestehen, beginnt meist mit der Teilung des Blepharoplasten. Er schwillt an, verlängert sich in der Querrichtung und nimmt dann meist eine mehr oder weniger spindelförmige Gestalt an; später eine hantelähnliche Form. Der weitere Teilungsvorgang entspricht dem einer primitiven Mitose, wie es schon Schaudinn und v. Prowazek angegeben haben und was die Untersuchungen Rosenbusch's nach seinen ausgezeichneten Präparaten und Abbildungen als sicher beweisen.

Nach ihm bildet sich (nach Untersuchungen an *Trypanosoma brucei*, *equinum* und *equiperdum*) „eine Äquatorialplatte und äußerst kleine Polkappen mit den

Centriolen; der achromatische Apparat ist leicht länglich faserig. Dann folgt das Stadium der Tochterplatten, an denen die einzelnen Chromosomen nicht erkennbar sind, doch treten sie an dem Profil des achromatischen Spindelapparates über; zuletzt sammelt sich das ganze färbbare Material in 2 Kappen an, ähnlich den Polplatten der Amöben, sie bleiben noch mit peripheren Fasern verbunden, auch diese durchtrennen sich bis auf den Zentralfaden, der längere Zeit zurückbleibt".

Aus dem neuen Tochterblepharoplasten entsteht, wie erwähnt, durch heteropole Teilung ein Basalkorn. Aus diesem selbst entsteht dann durch eine weitere Teilung die neue Geißel. Sie gleitet parallel der alten, meist in der gegenüberliegenden Körperhälfte in einer neu sich ausbildenden Membran, nach vorn, indem ihr knopfförmig verdicktes Vorderende sie allmählich auszieht. Die Geißel entspricht somit nach Rosenbusch der Zentralspindel der Basalkörner, an deren Polen die Centrosomen als Verdickungen derselben erscheinen.

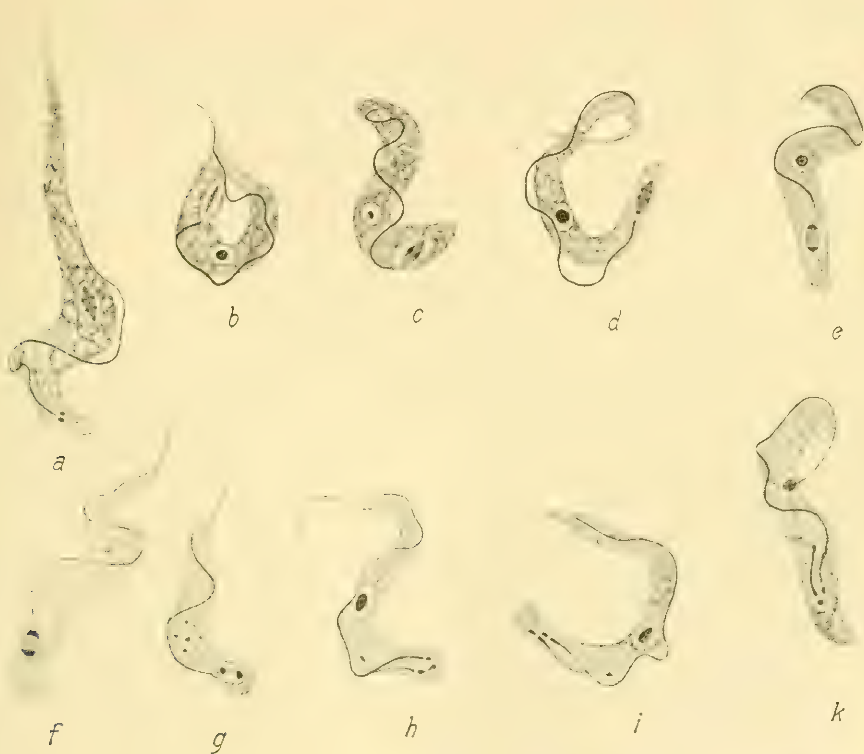


Fig. 2. Die Teilung der Trypanosomen. Nach Rosenbusch. *a Trypanosoma lewisi*, Hauptkernspindel mit Tochterplatten. *b—k Trypanosoma equinum.* *b* Spindelform des Blepharoplastkern. *c* Äquatorialplatte des Blepharoplastkern. *d* Tochterplatten des Blepharoplastkern. *e* und *f* Polkappen des Blepharoplastkern. *g* Hantelförmige Form des Blepharoplastkern (letzte Teilung). *h—k* neue Geißelbildung.

Die Teilung des Hauptkernes erfolgt meist später als die des Blepharoplasten, auch sie ist eine mitotische; nach v. Prowazek sammelt sich zunächst das Chromatin zu 8 länglichen Chromosomen, die sich bald hantelförmig zu teilen beginnen. Vorher erfolgt gewöhnlich die Teilung des Caryosoms, das zunächst hantelförmig ausgezogen wird. Das Chromatin sammelt sich an 2 Polkappen an.

Die Teilung des äußeren Zelleibes tritt in der Regel erst nach Abschluß der Kernteilungsvorgänge ein. „Der Zellleib verbreitert sich, das Protoplasma strömt und verdichtet sich gleichsam seitwärts im Sinne der beiden Tochterindividuen, die von ihrem Geißelende sich zu teilen beginnen, während sie in der Mitte noch durch die hautartig verbreiterten Periplasten verbunden sind. Später klappen sie auseinander und durch das Arbeiten ihres Bewegungsapparates in entgegengesetzter Richtung kommt es schließlich zur Durchtrennung“ (v. Prowazek). Das Bild der fast ganz durchschnürten mit den Hinterenden zusammenstoßenden Individuen trifft man sehr häufig an, es braucht wohl kaum darauf hingewiesen zu werden, daß es mit Conjugationsformen nichts gemein haben kann, selbst wenn die beiden jungen Individuen bereits Protoplasma-Unterschiede aufweisen sollten.

Oben ist bereits erwähnt, daß auch manchmal Mehrfachteilungen vorkommen, sie stellen nichts anderes dar als successive Zweiteilungen mit verzögerter Teilung des Zelleibes. Regelmäßige Mehrfachteilungen mit Entstehen rosettenartiger Formen — wie bei *Trypanosoma lewisi* — sind bei den anderen pathogenen Trypanosomen niemals beobachtet worden.

Neuerdings sind bei verschiedenen Trypanosomen von einzelnen Autoren ganz komplizierte Entwicklungscyklen innerhalb des Warmblüters beschrieben worden, sie sollen bei den betreffenden Arten näher besprochen werden.

Geschlechtsdifferenzen der Trypanosomen im Körper der Warmblüter.

Da vieles dafür sprach, daß bei den pathogenen Trypanosomen eine Weiterentwicklung in bestimmten Überträgern stattfinde, hat man schon frühzeitig nach Formen gesucht, die als Geschlechtsformen aufgefaßt werden konnten. Wenn es auch unmöglich war, Formen zu finden, die sich durch ganz charakteristische Merkmale als Geschlechtsformen gegenüber den schizogonischen auszeichneten, so fielen doch bald gewisse Unterschiede in der Affinität zu den Farbstoffen und im Verhalten von Protoplasma und Kern auf. Ziemann (199) war der Erste, der bei *Trypanosoma brucei* neben lichtblau sich färbenden breiteren Formen schmälere sah, die sich mehr violett tingierten und zahlreiche Granula enthielten. Er hielt es nicht für unwahrscheinlich, daß es sich hier um männliche und weibliche Formen handele.

v. Prowazek hat dann auf Grund seiner Studien an den Rattentrypanosomen 3 Formengruppen aufgestellt:

1. Formen mit einem nicht scharf umgrenzten Kern und zahlreichen Granulationen;
2. etwas schmälere, manchmal dunkler blau sich färbende Individuen mit einem schärfer umgrenzten, länglichen, chromatinreichen Kern;
3. Flagellaten, deren Körper gedrungener, massiger ist; das Protoplasma ist deutlich, gleichmäßig alveolär und färbt sich nach Giemsa in einem eigentümlichen, transparenten himmelblauen Farbenton. Der Kern ist deutlich rund, sukkulent und die bröckeligen Chromatinkörnchen über ein weitmaschiges Gerüst verteilt.

Typus 1 betrachtet v. Prowazek als indifferente Formen, 2 als Männchen. Diese beiden Typen sind nicht scharf voneinander gesondert und sind weit zahlreicher im Blut vorhanden als Typus 3, den er als die Weibchen auffaßt.

Der inzwischen bei verschiedenen Trypanosomen gelungene Beweis einer geschlechtlichen Weiterentwicklung im Überträger bestätigt die Richtigkeit obiger Auffassung, der sich die meisten auf diesem Gebiet speziell tätigen Forscher angeschlossen haben.

Geißellose Formen im Warmblüter.

Geißellose Formen von Trypanosomen sind in Ausstrichen von Blut und besonders von inneren Organen bereits seit Jahren des öfteren beschrieben worden. Die ersten, die solche „amöboide" Formen schilderten, waren PLIMMER und BRADFORD (141). Man sah solche Formen dann besonders auch bei medikamentös behandelten Tieren, und die Ansicht, daß es sich lediglich um Involutionsformen handle, wurde fast allgemein angenommen. Dafür spricht auch besonders, daß man solche Stadien besonders häufig in Organausstrichen von nicht mehr ganz frischen Kadavern findet. Der Form nach finden sich alle Übergänge von noch wohlerhaltenen Trypanosomen, die sich abgerundet haben, und bei denen die Geißel sich um den Körper herumgeschlungen hat, bis zu kleinen rundlichen ovalen Gebilden, an denen von der Geißel nichts Deutliches mehr erkennbar ist. Die Formen, bei denen die Geißel als roter Reif eine runde Scheibe umzieht, erinnern sehr an Protozoencysten, und so glauben auch neuerdings verschiedene Autoren bei einzelnen Trypanosomen gefunden zu haben, daß es sich nicht um Degenerationsprodukte, sondern um Lebensformen der Trypanosomen handelt. Das Nähere soll bei den betreffenden Arten besprochen werden. Vorläufig müssen diese Beobachtungen aber noch als nicht sicher erwiesen angesehen werden, um so mehr als die Untersuchungen meist an Ausstrichpräparaten und kaum an lebendem, ungefärbtem Material vorgenommen wurden.

Endoglobuläre Formen

von Trypanosomen hat bereits NISSLE (130) 1905 bei *Trypanosoma brucei* beschrieben, später hat HÖHNEL (63) das Eindringen von *Trypanosoma congolense* in rote Blutkörperchen beobachtet und neuerdings hat CARINI (35), bei *Trypanosoma lewisi* solche Formen gefunden, bei denen es zweifellos ist, daß die Trypanosomen in den Blutkörperchen selbst liegen. Die Abbildung 11 Tafel VI zeigt eine solche Form, nach einem uns von CARINI überlassenen Präparate. Daß das Eindringen der Trypanosomen in die roten Blutkörperchen nur äußerst selten stattfindet, ist sicher und es scheinen besondere Zustände nötig zu sein, um diesen Prozeß zu veranlassen. Wenn aber auch ein Teil der früheren Beobachtungen vielleicht auf Verwechslung mit angeklebten Formen — besonders häufig im frischen Deckglaspräparat vorkommend — beruht, so ist das tatsächliche Vorkommen des Vorgangs heute nicht mehr zu bezweifeln. Wesentlich gestützt wird diese Auffassung noch durch den Befund eines merkwürdigen trypanosomenähnlichen Parasiten in roten Blutkörperchen bei einem Faultier (*Choloepus didactylus*) durch MESNIL und BRIMONT (116), *Endotrypanum Schaudinni* (s. S. 314).

Zur Biologie der pathogenen Trypanosomen.

Die Trypanosomen schmarotzen in der Regel nur in den f l ü s s i g e n Geweben ihrer Wirte, und zwar in den normalerweise vorhandenen, als auch in durch die Krankheit auftretenden Trans- und Exsudaten. Vor allem ist es das Blut, das von den Trypanosomen bevorzugt wird und an dem deshalb auch die meisten Studien über das Verhalten der Trypanosomen gemacht werden konnten. Man findet die Trypanosomen zeitweise aber auch überall da, wo — wenn auch nur ganz geringe — Flüssigkeitsmengen in den Organen vorhanden sind, so in Knochenmark, Lymphdrüsen, Hoden, vorderen Augenkammern usw. Bei den einzelnen Trypanosomenarten soll auf die Verteilung und wechselnde Menge der Trypanosomen näher eingegangen

werden, desgleichen auf die Einzelheiten der pathogenen Wirkung, während hier nur das den verschiedenen Arten Gemeinsame kurz betrachtet werden soll.

Die Ernährung der Trypanosomen geschieht durch Osmose. Näheres über ihren Stoffwechsel ist aber noch kaum bekannt und wir können höchstens aus den Veränderungen, die sie im Körper verursachen, einige Schlüsse ziehen. Am wichtigsten für diese Betrachtungen sind die Veränderungen, die das Blut während der Trypanosomeninfektion erleidet.

Die **Veränderungen des Blutes** betreffen zunächst die roten Blutkörperchen. Im Verlaufe von Trypanosomeninfektionen tritt eine Abnahme der Erythrocyten ein, deren Zahl sehr beträchtlich bis auf ca. $^{1}/_{3}$ des Normalgehaltes herabsinken kann, dabei kommen von Zeit zu Zeit Perioden der Erholung vor, in denen die Zahl wieder zunimmt. Diese Verminderung der roten Blutkörperchen ist von einer großen Zahl von Autoren übereinstimmend konstatiert worden.[1]) Demgegenüber konnte LÖWENSTEIN (103) bei Mäusenagana selbst auf der Höhe der Infektion keine Abnahme der Erythrocyten und des Hämoglobingehaltes des Blutes feststellen. Nach anderen Befunden nimmt aber auch der Hämoglobingehalt beträchtlich ab, und zwar nicht immer konform der Zahl der roten Blutkörper. Morphologische Veränderungen der Erythrocyten, wie sonst bei schweren Anämien, findet man dagegen meist nicht in erheblichem Maße.

Was die weißen Blutkörper betrifft, so ist fast stets, und zwar bei natürlichen wie bei experimentellen Trypanosomiasen eine relative Vermehrung von Lymphocyten und großen Mononucleären festzustellen. Die polynucleären nehmen dabei in zahlreichen Fällen reiner Trypanosomeninfektiom an Zahl beträchtlich (bis ca. $^{1}/_{3}$ und mehr) ab, so daß die Zahl der Leucocyten im ganzen nicht verändert zu sein braucht, häufig kommt es aber auch zu einer Erhöhung dieser. Eine polynucleäre Leucocytose ist verschiedentlich in den ersten Tagen der experimentellen Infektion kleiner Versuchstiere beobachtet worden, desgleichen in vorgeschrittenen Fällen, bei denen aber stets mit Mischinfektion durch Eitererreger zu rechnen ist.

Im allgemeinen entspricht also die Veränderung des Leucocytenverhältnisses dem Verhalten bei vielen anderen Protozoeninfektionen.

Über das Verhalten der Blutplättchen liegt eine Untersuchung mit sehr sorgfältiger Versuchsanordnung von ACHARD und AYNAUD (1) vor, die bei Hunden mit starker Infektion von *Trypanosoma pecaudi* und *brucei* eine sehr starke Abnahme, desgleichen bei Ratten mit akut verlaufender Infektion dieser und *Trypanosoma equinum* fanden, eine weniger starke Abnahme bei subakut verlaufender Infektion von Ratten mit *Trypanosoma gambiense* und Meerschweinchen mit *Trypanosoma pecaudi*. Bei Kaninchen mit chronisch verlaufender Infektion von *Trypanosoma brucei* und *equinum* fanden sie die Zahl ungefähr normal. Je stärker die Infektion, desto geringer scheint die Blutplättchenzahl. (Bei Hundepiroplasmose fanden die Autoren übrigens das gleiche; bei anderen schweren Anämien ist die Beobachtung ja auch schon gemacht.) Der Erklärungsversuch der Autoren, daß Sekrete der Parasiten die Blutplättchen vielleicht beeinflussen, ist natürlich schwer beweisbar.

Die gelösten Eiweißstoffe des Blutplasmas hat Verf. (113) bei der Infektion des Hundes mit *Trypanosoma brucei* untersucht und fand dabei eine Zunahme der Globuline und eine Abnahme des Albumins, ein Verhalten analog dem bei bakteriellen Infektionen.

Über die Reaktion des Blutes bei Trypanosomeninfektion liegen Untersuchungen von YAKIMOFF (195) und NIERENSTEIN (129) vor. YAKIMOFF konnte bei

[1]) Literatur bei LEGER, Annales Pasteur Bd. 23 1909 S. 70.

Nagana- und Dourine-Hunden durch Prüfung mit Lakmus eine Zunahme der Acidität feststellen. NIERENSTEIN wandte noch feinere Methoden an, er prüfte den Säuregehalt des Serums und den Alkaligehalt des veraschten Blutkuchens getrennt, und fand eine Erhöhung der Acidität des Blutserums, die er hauptsächlich einer Zunahme der Amidosäuren zuschreibt. (Er hält diesen Nachweis eventuell für diagnostisch verwertbar.)

Eine Lipämie konnte Verf. (l. c.) bei Mal de Caderas-Hunden feststellen, die aber nicht auf quantitativer Vermehrung des Blutfettes beruhte; neuerdings beobachtete DURHAM[1]) dasselbe bei jungen Naganakatzen.

Unter dem Namen „Autoagglutination“ der roten Blutkörperchen ist vielfach ein Phänomen beschrieben worden, das charakteristisch für Trypanosomeninfektion sein soll und zu diagnostischen Zwecken verwertet wird. Die Erscheinung beruht darauf, daß nach Entnahme eines Bluttropfens, in demselben unter dem Deckglase keine Geldrollenbildung, sondern eine unregelmäßige Verklumpung der Erythrocyten stattfindet, die man schon mit dem bloßen Auge erkennen kann; Zusatz von 1 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung soll das Eintreten der Erscheinung begünstigen. Bei geheilten Fällen bleibt das Phänomen aus. Wenn auch das Auftreten der Autoagglutination bei Trypanosomiasis, wenigstens bei bestimmten Tierarten, zweifellos ist, so kommt es doch auch bei anderen Affektionen und normalen Tieren vor. Untersuchungen über die Art der die Reaktion auslösenden Stoffe hat jüngst WARRINGTON YORKE (187) veröffentlicht, auf dessen Arbeit hingewiesen sei.

Von anderen Veränderungen des Blutes infolge von Trypanosomeninfektion sei erwähnt, daß verschiedene Autoren im Verlauf derselben eine positive WASSERMANN'sche Reaktion beobachtet haben; auch die PORGES'sche Reaktion (Lezithin-Ausflockung) wurde von LEVADITI und YAMANOUCHI (96) bei Naganatieren positiv befunden. Beide Reaktionen verlaufen aber, wie Nachprüfungen ergaben, auch bei gesunden Tieren oft positiv.

Interessant ist die Beobachtung HARTOCH und YAKIMOFF's (60), daß bei trypanosomenkranken Meerschweinchen kurz vor dem Tode das „hämolytische Komplement“ aus dem Serum verschwindet.

Natürlich hat man nach Anhaltspunkten gesucht, die eine Erklärung für die pathogene Wirkung bestimmter Trypanosomen geben konnten, da ja zweifellos eine **Giftbildung** statthaben muß; denn das Schmarotzen nichtpathogener Trypanosomen in großen Mengen im Blute verschiedener Tierspecies zeigte ja, daß etwa rein mechanische Wirkungen auszuschließen waren. Die oben angeführten verschiedenen Veränderungen des Blutes ergeben an sich keinerlei Anhalt, auch ein Stoffwechselversuch beim Naganahunde (STAEHELIN) ergab keine eindeutigen Resultate, desgleichen sind aus Versuchen FELLMER's (52) beim Naganakaninchen bindende Schlüsse nicht zu ziehen. Direktes Suchen nach Toxinen bei den verschiedensten Trypanosomiasen ist bisher fast stets erfolglos gewesen, trotzdem zahlreiche Forscher durch Untersuchen von Organ- und Trypanosomenextrakten sich damit abmühten; wenige Arbeiten führen positive Ergebnisse an.

So erhielt LEBER (89) durch Injektion von *Trypanosoma brucei*-Blut, das zum Teil durch Erwärmen auf 40—60°, zum Teil durch längeres Stehen auf Eis nicht infektiös geworden war, in die vordere Augenkammer von Kaninchen eine Keratitis, die offenbar durch Toxine verursacht war. Auch mit dem Blut von Mäusen, die durch Spirarsyl trypanosomenfrei gemacht waren, konnte er die Reaktion auslösen, also das Kreisen von Toxinen in solchem Blut beweisen. Einer Angabe von UHLENHUTH, HÜBNER und WOITHE, daß durch Trocknen bei 37° oder durch Kälte unschädlich

[1]) Nach einer Mitteilung im Sleeping sickness Bullet. Bd. II 1910 S. 23.

gemachtes trypanosomenreiches Blut von Dourineratten andere Ratten tötete, fehlen nähere Protokolle.

Beck (5) injizierte Ratten und Mäusen das mit Kochsalzlösung zur Hälfte verdünnte und dann durch Berkefeld- oder Asbestfilter filtrierte *Trypanosoma gambiense*-Blut von Ratten und Mäusen intraperitoneal (1—2 ccm). Trotzdem die Filtrate trypanosomenfrei waren, erkrankten die Ratten vorübergehend und die meisten Mäuse starben nach 1—2 Tagen nach Somnolenzerscheinungen. Auch Kaninchen erkrankten nach intravenöser Injektion von 5 ccm vorübergehend. Normales entsprechend behandeltes Blut machte keine Störungen. Bei den am Leben gebliebenen Mäusen entstand eine gewisse Resistenz gegen spätere Impfung mit *Trypanosoma gambiense.* Beck nimmt an, daß bei der Auflösung von abgestorbenen Trypanosomen das Gift entsteht.

Laveran und Pettit (87) injizierten durch Zentrifugieren isolierte, in vacuo getrocknete und dann in Kochsalzlösung suspendierte Trypanosomen oder Extrakte davon Mäusen. Sie benutzten *Trypanosoma evansi* und *brucei* und sahen Krämpfe, Temperaturerniedrigung, Kollaps und eventuell Tod. Sie schließen daher auf die Anwesenheit von Endotoxinen. (Über Versuche mit Kulturen s. Seite 277.)

So sind bis jetzt die Versuche, betreffend Toxinbildung, nur in geringem Grad als positiv anzusehen; weit erfolgreicher war die Forschung nach im Verlauf der Infektion auftretenden spezifischen Substanzen. Diese sollen bei den einzelnen Arten besprochen werden.

Verhalten der Trypanosomen außerhalb des lebenden Körpers.

1. Überleben im Kadaver.

Beim Tode eines Tieres sterben auch mit dem Zelltod die Trypanosomen allmählich ab, dabei zeigt sich, daß die Dauer des Überlebens abhängt von der Fäulnis und von der Außentemperatur. Die Vitalität der verschiedenen Trypanosomen variiert dabei etwas. Ein großer Teil der Trypanosomen geht bereits kurz vor dem Tode zugrunde, was der Befund zahlreicher Zerfallsformen im Blute beweist.

Untersuchungen an weißen Mäusen, die mit Nagana-, Mal de Caderas-, Surra-, Dourine-, und El Delab-Erregern infiziert waren, wurden von Yakimoff und Kohl (196) vorgenommen, die fanden, daß in bei 1,5—5° aufbewahrten Kadavern die Trypanosomen ihre Vitalität in maximo 58 Stunden, bei Zimmertemperatur in maximo 27, in minimo 12 Stunden bewahrten.

Andere Autoren kamen zu ähnlichen Resultaten, zum Teil auch bei spontan infizierten Tieren.

2. Überleben außerhalb des Körpers.

In defibriniertem, trypanosomenhaltigem Blute hängt die Lebensdauer der Trypanosomen auch wesentlich von der Sterilität und der Temperatur ab. Bei mäßiger Temperatur können sich pathogene Trypanosomen mehrere Tage, bis zu ca. einer Woche dabei lebensfähig halten, Zusatz von Pferdeserum (Laveran) wirkte begünstigend, nach eigenen Erfahrungen auch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung. Beim Aufbewahren im Eisschrank wurden bei *Trypanosoma lewisi* noch nach fast 3 Monaten (Francis) lebende Individuen gesehen; die anderen Warmblütertrypanosomen halten sich aber auf Eis in maximo meist nur eine Woche. In solchem überlebenden Blute kommt es, besonders in den ersten 24 Stunden, sogar zu einer Vermehrung der Trypanosomen; wie viele Protozoen, so neigen auch die Trypanosomen, sobald sie unter ungünstige Ernährungsverhältnisse kommen, zur Teilung. Man findet in diesen Fällen dabei sogar oft zahlreiche Mehrfachteilungen. Es sind dies fortgesetzte Zweiteilungen, bei denen durch bestimmte Funktionsstörungen die Durchtrennung des Protoplasmaleibes nicht mehr erfolgen kann.

Geringes Bakterienwachstum beeinträchtigt zunächst die Trypanosomen kaum; sobald es aber zu starker Vermehrung kommt, insbesondere durch Fäulnis, gehen die Trypanosomen zugrunde.

Das Überleben in Arthropoden, die nicht als Überträger in Betracht kommen, durch Saugenlassen bzw. durch Impfung nicht stechender Arten, welch letzteres mehr zu den „biologischen Unterhaltungen" gehört, braucht nicht besprochen zu werden.

3. Die Kultur außerhalb des Tierkörpers.

Die wirkliche Kultur von Trypanosomen außerhalb des Tierkörpers ist zuerst Novy und Mc Neal (133) bei *Trypanosoma lewisi,* dann aber auch bei *Trypanosoma brucei* gelungen.

Das Nährmedium dieser Autoren besteht aus:

Extrakt von 125 g Rindfleisch in 1000 ccm Wasser,
Agar 20 g,
Pepton 20 g,
Kochsalz 5 g,
Normal Na_2CO_3 10 ccm.

Dieser fertiggestellte und bei ca. 55° flüssig in Reagenzröhrchen gehaltene Agar wird dann mit entsprechenden Mengen steril entnommenen (aus Carotis oder durch Herzpunktion) defibrinierten Kaninchenblut gemischt, die Röhrchen schräg gelegt und erstarren lassen.

Für *Trypanosoma lewisi,* die Trypanosomen der kleinen Säuger, und einige Vogeltrypanosomen genügt nach unseren Erfahrungen dabei meist 1 Teil Blut zu 1—2 Teilen Agar. Für pathogene Trypanosomen ist ein Überschuß von Blut (2 : 1) nötig; für letztere Fälle ist daher 2½ % Agar wegen des besseren Erstarrens vorzuziehen. Die erstarrten Röhrchen kommen für 24—48 Stunden in 37°, damit sich reichlich Kondenswasser absetzt. Die Impfung erfolgt mit einigen Tropfen oder Ösen ins Kondenswasser. Die Röhrchen werden am zweckmäßigsten bei Zimmertemperatur dunkel aufbewahrt.

In diesen Kulturen kommt es im günstigen Fall zu einer enormen Vermehrung der Parasiten, die dabei in mächtigen rosetten- bzw. morgensternartigen Haufen besonders auf der Oberfläche des Kondenswassers wuchern; oft zieht sich die Kultur auch als dicker feuchter grau erscheinender Belag die Agaroberfläche hinauf.

Bei manchen Arten gelingt die Abimpfung von Kultur zu Kultur in vielen Generationen. bei anderen, besonders bei den wichtigsten pathogenen Arten aber gelingen sowohl die Primärkulturen relativ selten, als auch das Wachstum meist spärlicher ist und Subkulturen oft mißlingen.

Alle Versuche, den Nährboden zu verbessern, sind bisher nicht gelungen; insbesondere hat sich noch keine Blutart gefunden (mit Ausnahme von Vogelblut für einige Vogeltrypanosomen), die das Kaninchenblut mit Vorteil ersetzen kann.

Bei Verunreinigung der Kulturen mit Bakterien war es Novy und Mc Neal möglich, durch Gießen von Blutagar in Petri-Schalen und Beimpfen isolierte Flagellatenkolonien zu erhalten; ich fand Eingießen in Kolben mit breitem Boden und Überschütten mit Blutagarkondenswasser vor der Impfung für sehr vorteilhaft zu dieser Methode.

Die Züchtung auf einfacheren Nährböden, nämlich auf gewöhnlicher Nährbouillon, der 1—2 ccm des infizierten Blutes zugesetzt werden, ist bisher nur bei gewissen Rindertrypanosomen gelungen, die zum Teil überhaupt durch diese Methode entdeckt worden sind und zweifellos eine ganz besondere Stellung unter den Trypanosomen einnehmen. Für andere Trypanosomenarten, auch nichtpathogene, ist die Methode bisher erfolglos geblieben.

Verhalten der Trypanosomen außerhalb des Körpers gegen physikalische und chemische Einflüsse.

1. Hitze. Bei höheren Temperaturen gehen die Trypanosomen rasch zugrunde. Temperaturen über 40° schädigen die meisten bereits sehr schnell; Temperaturen von im Mittel 40—45° töten sie rasch ab, nur einige kaum pathogene Trypanosomen, wie *Trypanosoma lewisi,* sind etwas resistenter und sterben dabei langsamer.

2. Kälte. Es ist oben bereits erwähnt, daß Temperaturen von + 4° günstig für die Lebenderhaltung im Blut wirken, auch mäßige Kältegrade, ca. — 5°, können sie mehrere Tage aushalten, wenn sie dabei auch wenig beweglich oder unbeweglich werden. Höhere Kältegrade töten sie dagegen allmählich ab; immerhin beobachteten Laveran und Mesnil, daß *Trypanosoma lewisi* den Aufenthalt in flüssiger Luft (— 191°) bis zu 1 Stunde, *Trypanosoma brucei* 25 Minuten ohne Schädigung vertrugen.

3. Eintrocknen. Beim Eintrocknen gehen die Trypanosomen meist in kurzer Zeit zugrunde, aber beim Trocknen von Blut kann man eventuell beobachten, daß mit trockener Substanz sich noch Tiere infizieren lassen. Dies beruht wohl darauf, daß in der scheinbar trockenen Masse im Innern noch feuchte Stellen erhalten sind, in denen einige Individuen dem Eintrocknen und dadurch dem Absterben entgingen.

4. Licht. Gegen diffuses Tageslicht sind Trypanosomen in vitro nicht sehr empfindlich und auch unter dem Deckglas im Mikroskop im Brennpunkt greller künstlicher Beleuchtung können sie sich stundenlang lebend erhalten.

Die von Tappeiner studierte Wirkung des Lichtes auf Protozoen nach Zusatz fluoreszierender Substanzen wurde von ihm und Busck (33) auch bei Trypanosomen untersucht. In vitro zeigte sich bei *Trypanosoma brucei,* daß die so behandelten Trypanosomen im Dunkeln über 24 Stunden am Leben blieben, bei Belichtung nach ca. 15 Minuten etwa abstarben. In vivo versagte aber die photodynamische Wirkung.

5. Röntgen- und Radiumstrahlen usw. Die Wirkung dieser Strahlen untersuchten u. a. Loewenthal und Rutkowsky (104), Sie fanden, daß Röntgenstrahlen *Trypanosoma lewisi* in vitro schädigten, selten töteten; sie wurden unbeweglich und es ließ sich dann in der Nähe des Blepharoplasten eine kleine Vakuole erkennen; in vivo hatten Röntgenstrahlen keinen Einfluß. Früher hatten Nobele und Goebel (131) und andere keine Wirkung der Röntgenstrahlen auf *Trypanosoma brucei* in vivo und vitro feststellen können.

Mit Radiumbestrahlung konnten obige Autoren selbst nach 22 stündiger Einwirkung in vitro keinen Einfluß erkennen. Laveran und Mesnil einen geringen.

Ultraviolette Strahlen töteten nach Bordier und Horand (14) *Trypanosoma lewisi* selbst in schwacher Dosierung in vitro in wenigen Sekunden ab, es kam dabei gleichzeitig zu einer Reduktion des Hämoglobins; die Trypanosomen wurden erst granuliert und dann ganz transparent.

6. Einwirkung chemischer Substanzen.

Hier gelten im allgemeinen die Erfahrungen, die bei den zahlreichen Versuchen mit den verschiedensten Protozoen gewonnen sind, bezüglich derer auf v. Prowazek's „Physiologie der Einzelligen" (Teubner, 1910) verwiesen sei.

Erwähnt seien hier nur einige speziell bei Trypanosomen angestellte Versuche.

Hypertonische Kochsalzlösungen wirkten in Versuchen von Siebert (167) vor allem schädigend auf das Protoplasma, weniger auf den Kern; der Vorgang der Auflösung entspricht nicht ganz dem Bild der „Plasmolyse" (s. a. v. Prowazek l. c. S. 48.).

Saponin und taurocholsaures Natron in Verdünnung 1: 10 lösten in kurzer Zeit alles auf.

Bei Verdauung mit Pepsin und Trypsin blieben auch die Kernsubstanzen noch lange erhalten.

Auch gewisse Bakterientoxine wirken in vitro stark giftig auf Trypanosomen; so fand OHKUBO (137) die Pyocyanase, LEVADITI und TWORT (95) Substanzen aus der Kultur von *Bacillus subtilis* wirksam.

Zur Einteilung der Trypanosomen.

R. KOCH hat seinerzeit vorgeschlagen, die Trypanosomen nach ihrer Morphologie, Virulenz und ihrem Verhalten dem Wirtstier gegenüber in 2 Gruppen einzureihen. In die erste stellte er die morphologisch distinkten und nur bei bestimmten Tierarten parasitierenden *Trypanosoma lewisi* und *theileri*, in die zweite die übrigen Warmblütertrypanosomen.

Auf Grund der neueren Erfahrungen möchte ich — natürlich nur praktischen, nicht zoologischen Gesichtspunkten entsprechend — folgende Gruppierung vorschlagen.

A. Säugetiertrypanosomen.

I. Auf bestimmte Wirte angepaßte, wenig virulente, unter normalen Verhältnissen nur auf die betreffende Wirtsart überimpfbare und in der Kultur leicht züchtbare Arten (zum Teil durch morphologische Merkmale charakterisiert).
= *Trypanosoma lewisi*, Rindertrypanosomen der *Trypanosoma theileri*-Gruppe; verschiedene Trypanosomen kleiner Säuger.

II. Bei natürlicher Infektion nur bei bestimmten Wirten beobachtete aber auf andere Arten übertragbare pathogene Trypanosomen.
= Die verschiedenen Erreger von Equidenseuchen *(Trypanosoma equiperdum, equinum, hippicum, venezuelense), Trypanosoma gambiense.*

III. Bei den verschiedensten Säugetieren spontan vorkommende pathogene Arten *(Trypanosoma brucei, evansi)* und verschiedene „afrikanische“ pathogene Säugetiertrypanosomen.

IV. Den eigentlichen Trypanosomen nahe verwandte Arten *(Schizotrypanum Cruzi* und *Endotrypanum Schaudinni).*

B. Vogeltrypanosomen.

C. Kaltblütertrypanosomen.

Im Rahmen dieses Abschnittes sollen im folgenden nur die pathogenen Arten besprochen werden. Dazu gehören auch trotz ihrer geringen Virulenz diejenigen der Gruppe A I. Zahlreiche Trypanosomen dieser Gruppe, besonders solche der kleinen Säuger und die Vogeltrypanosomen, die in der Regel nicht pathogen und praktisch kaum von Bedeutung sind, können daher nicht angeführt werden.

Trypanosoma lewisi (KENT).

Trypanosoma lewisi ist ein Blutschmarotzer wilder Ratten und zwar ist er bisher bei *Mus rattus, decumanus* und *rufescens* und einigen Abarten davon beobachtet. Er ist bereits 1850 von CHAUSSAT gesehen, 1878 von LEWIS als Protozoon erkannt, von KENT 1880 in seinem Handbuche der Infusorien als *„Herpetomonas lewisi“* beschrieben worden.

Verbreitet ist der Parasit bei den Ratten aller Weltteile, und zwar scheint *Mus decumanus* in viel höherem Prozentsatz infiziert zu sein, als die Hausratte. Viel-

leicht ist das Trypanosoma durch erstere, die 1727 aus den kaspischen Ländern und von den rumänischen Steppen kam, andererseits 1732 durch Schiffe aus Ostindien nach England verschleppt wurde, so stark verbreitet worden; denn das gesellige Leben gerade dieser Art begünstigt auch die Übertragung (v. Prowazek). Auf jeden Fall ist in den letzten Jahren fast überall in den Tropen und gemäßigten Zonen, wo danach gesucht wurde, *Trypanosoma lewisi* bei wilden Ratten festgestellt worden. Die Jahreszeit scheint in verschiedenen Ländern einen Einfluß auf den Prozentsatz der infizierten Tiere zu haben, dessen Ursache noch aufgeklärt werden muß.

Virulenz. Das *Trypanosoma lewisi* scheint normalerweise bei den natürlich infizierten Ratten stets nur sehr schwach oder wenig virulent zu sein, wenigstens sind sichtbare Krankheitserscheinungen meist nicht erkennbar und bei der Mehrzahl der Tiere schwindet allmählich wieder die Infektion (s. a. später). Diese schwache Virulenz, vielleicht völlige Apathogenität, zeigt sich auch meist bei der Übertragung auf weiße Ratten, die nur ausnahmsweise sterben und zwar scheinen hauptsächlich junge Tiere dann der Infektion zu erliegen. Nach verschiedenen Beobachtungen sind es bestimmte Stämme, die sich so von einer stärkeren Virulenz zeigen. Bei vielen Hunderten von geimpften weißen Ratten haben wir selbst im Laufe der Jahre nur ganz ausnahmsweise Todesfälle gesehen. Daß auch bei wilden Ratten *Trypanosoma lewisi* pathogene Wirkung zeigen kann, schloß jüngst Klein (69) durch den Befund massenhafter Trypanosomen bei einer tot eingelieferten Schiffsratte; Überimpfung auf Maus und Meerschwein, leider aber nicht auf Ratte, wurde vergeblich versucht.

Der Verlauf der natürlichen Infektion ist gewöhnlich ein chronischer: Rabinowitsch und Kempner (144) beobachteten Dauer bis zu 6 Monaten.

Die künstliche Infektion von wilden und weißen Ratten ist zum Studium des Verlaufs und der Morphologie unerläßlich, dieselbe gelingt leicht durch Einimpfen von trypanosomenhaltigem Blut und zwar am leichtesten durch intraperitoneale und subkutane, aber auch durch perkutane, unter Umständen auch durch intrastomachale Impfung. Am zuverlässigsten ist die intraperitoneale Impfung, während die subkutane — besonders bei erstmaliger Verimpfung auf weiße Ratten — manchmal Mißerfolge geben kann.

Morphologie der Parasiten.

Nach der künstlichen Infektion kommt es in den ersten 2—3 Tagen nach der Impfung zu einer Vermehrung der Parasiten durch die charakteristische multiple Teilung, bei intraperitonealer Impfung ist dieselbe auch besonders im Bauchsaft nach 24 Stunden sehr schön nachweisbar. Nach Ablauf von 3—4 Tagen findet man fast niemals mehr multiple Formen, sondern es bildet sich ein Zustand chronischer Infektion aus, bei dem lediglich noch Vermehrung durch Zweiteilung stattfindet.

Der Verlauf der Infektion und die Morphologie sind besonders studiert worden von Rabinowitsch und Kempner (l. c.), Wasielewsky und Senn (189), Laveran und Mesnil (86), in neuerer Zeit von Minchin (l. c. 121), Swellengrebel (180) und anderen.

Die Größe der Parasiten im Blut schwankt beträchtlich, v. Prowazek (l. c. 142) setzt die Grenzen zwischen 7—20 μ (ohne Geißeln); es kommen sogar noch längere Formen vor.

Charakteristika. Das *Trypanosoma lewisi* unterscheidet sich von den meisten anderen Warmblütertrypanosomen durch besondere Charakteristika: Es

ist in der Regel sehr schmal und schlank — besonders zur Zeit der chronischen Infektion. Der Hauptkern liegt nahe dem Vorderende, ungefähr am Ende des vorderen Körperdrittels im Gegensatz zu anderen Arten, bei denen er in der Mitte liegt. Das Hinterende ist meist ganz spitz und oft schnabelartig verlängert. Die undulierende Membran ist der Schlankheit entsprechend nur sehr mäßig ausgebildet (Fig. 4 und 5, Tafel VI).

Die freie Geißel ist oft sehr lang. Das *Trypanosoma lewisi* ist dank seines schlanken Baues sehr lebhaft beweglich, dabei kommen auch Bewegungen mit dem Hinterende nach vorne vor.

Die bei der allgemeinen Morphologie geschilderten Details sind bei *Trypanosoma lewisi* oft alle sehr deutlich zu sehen, man findet als Geschlechtsdifferenzen aufzufassende Unterschiede, manchmal auch Granula, Axialfäden usw.

Die multiple Teilung: Sie findet, wie erwähnt, meist nur in den ersten Tagen der künstlichen Infektion statt. Sie ist eigentlich nicht anders aufzufassen als eine successive Teilung und Vermehrung der Kernelemente unter enormer Zunahme des Zelleibes, der erst eine breit ovale, dann rundliche, dann rosettenartige Form annimmt.

Man findet alle Stadien dieser Teilung nebeneinander, breite Formen mit 2 Blepharoplasten und beginnender Kernteilung, solche mit bereits mehreren Kernen, die aber immer noch längliche Trypanosomenform zeigen, dann die rundlichen vielkernigen Gebilde mit noch ganz kurzen Geißeln, bis zu Rosetten mit fast vollendeten neuen Individuen, nur noch durch einzelne Protoplasmabrücken zusammenhängend. Auf den Abbildungen (Fig. 7—10, Taf. VI) sind einige charakteristische Stadien herausgegriffen.

Ob die Teilung der Kerne als Mitose oder Amitose aufzufassen ist, darüber herrscht, trotz der oben (S. 254) angeführten Befunde, noch keine völlige Einigkeit. Die Blepharoplastteilung wird wenigstens übereinstimmend als „primitive Mitose" (Promitose) aufgefaßt, während die Hauptkernteilung bei *Trypanosoma lewisi* nach SWELLENGREBEL „mehr einer Amitose, denn einer Mitose" gleicht.

Auch SALVIN-MOORE, BREINL und HINDLE (156) haben sich bemüht, die Kernverhältnisse bei der Teilung näher zu erforschen.

SCHILLING (161) beschreibt eingehend Beobachtungen an den beiden Kernen, die der Teilung vorausgehen, nämlich Kernconjugationen, die er als Autogamie bezeichnet. Auch v. PROWAZEK (l. c. 142) hat bei *Trypanosoma lewisi* Prozesse an den Kernen beobachtet, die er als Autosynthesis des Caryosoms, Reduktion und Parthenogenese auffaßt.

Die jungen aus der multiplen Teilung hervorgegangenen Individuen haben den Blepharoplasten stets nahe dem Kern neben oder vor ihm gelagert, und stellen also Crithidiaformen dar; SWELLENGREBEL bildet auch Formen ab, bei denen die Geißel aus rundlichem Körperende direkt entspringt, die also „Leptomonasformen" entsprechen. Diese jugendlichen Formen, die oft äußerst klein und manchmal rundlich sind (Fig. 1—3 und 8, 9 Taf. VI), können auch wieder direkt Zweiteilungen zeigen.

Während dieser akuten Teilungsperiode zeichnet sich *Trypanosoma lewisi* also durch einen großen Polymorphismus aus, man findet dabei auch kernlose Formen (Fig. 6, Taf. VI), ferner Formen mit enorm ausgezogenem Hinterende [vielleicht entspricht LINGARD's *Trypanosoma longocaudense* solchen Stadien (97)].

Die nach Ablauf der multiplen Teilungsperiode im Blute auftretenden Formen zeigen stets die beschriebenen Charakteristika, man findet aber bei genauer Durchsicht dabei Typen, die sich in die oben (S. 256) geschilderten Gruppen (männliche, weibliche und indifferente) einreihen lassen.

Die Dauer der künstlichen Infektion schwankt beträchtlich, gewöhnlich beträgt sie mehrere Wochen eventuell Monate, es kommt dabei häufig zu periodischer Abnahme und Zunahme der Parasitenzahl im Blute, schließlich verschwinden die Parasiten ganz und Überimpfungen selbst großer Blutmengen und von Organbrei haben in verschiedenen Versuchen die Anwesenheit vereinzelter Parasiten nicht mehr beweisen können.

In den seltenen Fällen, in denen es zu Krankheitserscheinungen kommt, zeigen die Tiere eine Gewichtsabnahme und beim eventuellen Tode einen Milztumor.

Übertragung auf andere Tierarten.

Nach den Ergebnissen aller Untersucher galt es bis vor kurzem als sicher, daß eine richtige Übertragung des *Trypanosoma lewisi* auf andere Tierarten nicht möglich sei, und daß lediglich rudimentäre Infektionen z. B. beim Meerschweinchen zu erzielen seien. Durch die Arbeiten von ROUDSKY (149—152) und DELANOE (42) ist nun diese Ansicht hinfällig geworden. Es gelang zuerst ersterem zu zeigen, daß sich Mäuse mit *Trypanosoma lewisi* infizieren lassen. Das benutzte Virus war zuerst längere Zeit durch Kulturen geschickt und dann in raschen Passagen von Ratte zu Ratte (Abimpfung 48 Stunden nach der Impfung) verimpft worden. Dies Virus (*Trypanosoma lewisi „renforcé“*) ließ sich auch auf *Mus sylviaticus* und *arcalis* überimpfen. Bei weißen Mäusen wurden Passagen erhalten. Während zuerst nur bei einem geringen Prozentsatze der Mäuse die Impfung gelang und dito die Passage, nahm mit der Zahl der Passagen der Prozentsatz der infizierbaren Mäuse zu, der bei der 75. Passage bereits 82 % betrug.

Im Anfang starben nur wenige Tiere, die Veränderungen von Milz und Leber zeigten, aber allmählich nahm die Virulenz zu und bei den letzten Passagen starben fast 100 % der Tiere, und zwar zwischen dem 3.—6. Tage, gegen 16 % der ersten Passagen. Die Trypanosomen finden sich in beträchtlicher Zahl im Blut mit vielen multiplen Teilungen. Auch DELANOE gelang die Übertragung, und zwar mit gewöhnlichen Stämmen, wobei er fand, daß sie sich in der Virulenz verschieden verhielten, als auch mit Kultur. Dabei war bei der Impfung mit Kultur der Prozentsatz der Erfolge höher, so daß er annimmt, daß durch diese die strenge Spezifität des *Trypanosoma lewisi* beeinträchtigt wird. Es kam zu starker Vermehrung der Trypanosomen und die Infektionsdauer schwankte von 4 Tagen bis zu 24 Tagen, mehrmals sah er Todesfälle. Passagen mißlangen ihm bis jetzt.

WENDELSTADT und FELLMER (190 und 191) haben durch Kaltblüterpassagen Ringelnattern, Eidechsen, Erdmolche usw.) eine Virulenzsteigerung mit Verkürzung der Inkubation und tödlich verlaufender Infektion gesehen. LAVERAN und PETTIT (88) haben dagegen eingewendet, daß septikämische Mischinfektion dabei vielleicht mitgewirkt habe.

Immunität.

RABINOWITSCH und KEMPNER (l. c. 144) haben zuerst beobachtet, daß bei Ratten, die eine Infektion mit *Trypanosoma lewisi* überstanden haben, eine Immunität zustande kommt. Besonders bei künstlich infizierten weißen Ratten, bei denen die Infektion meist akuter (in wenigen Wochen) abläuft, kommt diese Immunität fast ausnahmslos zur Erscheinung. Es gelingt nicht, solche Ratten durch Einverleibung neuer Trypanosomen zu infizieren. Die Immunität ist eine „Immunitas sterilisans“ im Gegensatz zu vielen anderen Protozoeninfektionen, wie verschiedene Versuche be-

wiesen haben. Es sei besonders auf die Arbeit MANTEUFEL's (108) verwiesen, die eine kritische Nachprüfung der früheren Befunde enthält. Die Dauer dieser aktiven Immunität beträgt im Durchschnitt 3 Monate. MANTEUFEL glaubt, daß selbst bei Tieren, die wiederholt vorbehandelt sind, eine Dauer über 1 Jahr kaum zu erwarten ist. Bei dem Zustandekommen der Immunität spielt nach LAVERAN und MESNIL die Phagocytose die Hauptrolle, während MANTEUFEL die Wirkung mehr trypanoziden bzw. trypanolytischen Eigenschaften des Immunserums zuschreibt.

Die Immunität unterscheidet sich von der bakteriellen dadurch, daß sie nicht durch Einverleiben auf verschiedene Art abgetöteter Trypanosomen, sondern lediglich durch Überstehen der Infektion mit lebenden Erregern ausgelöst werden kann (MANTEUFEL, DÜRING [46]).

Die aktive Immunität ist streng spezifisch, sie gewährt keinerlei Schutz gegen die Einverleibung anderer Trypanosomen.

RABINOWITSCH und KEMPNER fanden aber auch, daß das Serum der aktiv immunen Ratten spezifische Eigenschaften folgender Art zeigte:

1. Immunserum, in entsprechender Weise mit trypanosomenhaltigem Blut vermischt, verhindert die Infektion weißer und grauer Ratten.

2. Auch bei Vorbehandlung 24 Stunden vor bzw. Nachbehandlung 24 Stunden nach der Infektion tritt Schutzwirkung ein.

Der Titer des Serums ist von der Intensität (Häufigkeit) der Vorbehandlung abhängig; höhere Titer als 0,05 ccm konnte aber MANTEUFEL niemals erhalten. Die Schutzwirkung ist nicht immer eine absolute; kommt es zu völligem Schutz also Ausbleiben der Infektion, dann tritt nach MANTEUFEL keine aktive Immunität des betreffenden Tieres ein; LAVERAN und MESNIL sahen eine solche in ca. 50 % ihrer Fälle, doch war es dabei vorher meist trotz des Serums zu einer leichten Infektion gekommen.

Die Wirkung der Sera wird durch Erwärmen auf 58° nicht, auf 58—64° bei ¾stündiger Einwirkung nach LAVERAN und MESNIL nur zum Teil beeinflußt.

Heilversuche mit den Immunseren nach Erscheinen der Trypanosomen im Blut sind niemals gelungen.

Verhalten des *Trypanosoma lewisi* in vitro. Agglomeration.

Im allgemeinen Teil (S. 260) ist bereits kurz auf das Verhalten der Trypanosomen in vitro hingewiesen und dabei erwähnt worden, daß das *Trypanosoma lewisi* von den Warmblütertrypanosomen relativ am widerstandsfähigsten ist.

In vitro lassen sich an *Trypanosoma lewisi* aber auch noch verschiedene Phänomene studieren; hierher gehört die Agglomeration. LAVERAN und MESNIL haben die Erscheinung zuerst studiert und konnten dabei folgendes feststellen:

Agglomeration tritt ein: 1. durch längeres Stehenlassen von Blut im Eisschrank, 2. durch den Einfluß von Ratten-Immunserum und 3. durch den Einfluß verschiedener anderer Sera. Es kommt dabei zu einem Aneinanderhaften von zuerst 2, dann immer mehr Individuen mit dem Hinterende, wodurch Rosetten mit nach außen befindlichen lebhaft beweglichen Geißeln entstehen. Solche Rosetten nähern sich dann oft noch gegenseitig, sodaß sie miteinander verschmelzen. Die agglomerierten Individuen bleiben beweglich und infektiös, und es kommt selbst häufig nach einiger Zeit wieder zu einer Desagglomeration.

Unter den wirksamen, Agglomeration auslösenden, Sera steht obenan das Immunserum. Nur nach mehrmaliger Vorbehandlung erwirbt nach MANTEUFEL (107) das Serum diese spezifische Eigenschaft, die dem normalen Rattenserum

und dem von Ratten mit anderen Trypanosomen fehlt. Er studierte besonders diese spezifische Agglomeration, wobei er fand, daß sie an die Vitalität und Bewegungsmöglichkeit der Trypanosomen gebunden ist. Bei 45° abgetötete Trypanosomen konnte er nicht mehr zur spezifischen Agglomeration bringen, auch im Reagenzglas abgestorbene nicht mehr. Die von Laveran und Mesnil beobachtete Agglomeration durch Formol und Chloroform abgetöteter Trypanosomen hält Manteufel für spontane Verklumpungen, die mit dem spezifischen Phänomen nichts gemein haben. Dagegen erhielt Düring (l. c. 46) sehr schöne Agglomerationen gewaschener Trypanosomen durch Zusatz von Brillantkresylblau, Methylblau, 0,3 %iger Salzsäure, 1 %iger Kochsalzlösung. Auch die Einwirkung von Galle und taurocholsaurem Natron in dünnen Lösungen begann mit Agglomeration.

Andere, Agglomeration von *Trypanosoma lewisi* auslösende Sera sind nach Laveran und Mesnil die folgenden:

Schaf-, Ziegen-, Hunde-, Kaninchenserum (schwach wirksam), Hühner-, Pferde- und [nach Françis] Katzenserum (stark wirksam . Düring fand auch Katzenserum und einmal Menschenserum wirksam. — Die Immunsera und die obengenannten normalen werden durch ¾ stündiges Erhitzen auf 55—58° in ihrer agglomerierenden Wirkung nicht beeinträchtigt, durch ½ stündiges Erhitzen auf 63—65° geht die Wirkung verloren.

Das Phänomen der Agglomeration faßt Manteufel als eine „Stimulierung des lokomotorischen Apparates" auf. v. Prowazek glaubt an eine Beteiligung der Blepharoplasten — da die Agglomeration mit dem blepharoplasttragenden Ende erfolgt —, vielleicht, „daß durch einen Austritt der Blepharoplastsubstanz und ihre Verquellung eine Klebrigkeit des den Blepharoplast einschließenden Zellendes herbeigeführt wird, die erst die Agglomeration ermöglicht". Er sah auch bei längerer Giemsa-Färbung einen rötlichen „Schleimhauch" zwischen den Agglomerationssternen.

Die spezifische Agglomeration steht nach Mesnil und Brimont's Versuchen bei anderen Trypanosomen (117, 118) sowie von Manteufel bei *Trypanosoma lewisi* mit der Schutzkraft des Serums in keinem direkten Zusammenhang, die beiden Eigenschaften können sich im gleichen Serum ganz entgegengesetzt verhalten.

Kultur.

Das allgemeine über Kultivierung der Trypanosomen ist bereits S. 261 beschrieben, dort ist schon erwähnt, daß das *Trypanosoma lewisi* dasjenige Trypanosom ist, das sich am besten kultivieren läßt. Impft man *Trypanosoma lewisi*-haltiges Blut in Mc Neal-Novy'schen Blutagar, so sieht man in den ersten Tagen zahlreiche degenerierende Formen. Nach einigen Tagen, bei Zimmertemperatur gewöhnlich nicht vor dem 5. bis 6. Tage, tritt dann eine Vermehrung ein. Es bilden sich Rosetten (richtiger morgensternartige Kugeln) von Flagellaten, zuerst aus wenig, zuletzt aus Tausenden von Individuen bestehend.

Für diese Flagellatenmassen ist charakteristisch, daß die Geißeln der Einzelindividuen s t e t s nach innen gerichtet sind. Man sieht, besonders schön in feuchtfixierten Giemsa-Präparaten, das Centrum der Rosette aus einem Gewirr von Geißeln bestehend. Kommt es zur Anhäufung unzähliger Flagellaten, so sind auch die Geißeln der weiter außen liegenden stets nach innen gerichtet und schieben sich zwischen die Leiber anderer Trypanosomen.

Nur bei ganz großen Haufen sieht man manchmal in der äußersten Peripherie vereinzelte Flagellaten-Formen mit der Geißel nach außen, die aber wohl losgerissen und sekundär wieder angelagert sind. — Es ist die rein akademische Streitfrage auf-

geworfen worden, ob es sich bei den Kulturrosetten auch um Agglomeration handle. Ich glaube es nicht, sondern halte es für möglich, daß bei der Zweiteilung, wobei zuerst die Geißelenden fertiggebildet werden, die Durchschnürung des Zelleibes verzögert wird und so eine Verfilzung der Geißeln eintritt, die bei der Weiterteilung stets stärker wird. Kulturrosetten mit nach außen liegenden Geißeln sah ich niemals bei *Trypanosoma lewisi;* echte Agglomerationen dieses sind abgesehen von der Lagerung der Geißel niemals so regelmäßig und so fest gefügt wie die Kulturrosetten, eine Verwechslung ist unbedingt ausgeschlossen. (Die von v. Prowazek beschriebenen und abgebildeten Formen sind echte Agglomerationen, aber seine Kulturen waren auch nur abortive; sah er doch nur in den ersten 24 Stunden Vermehrung.)

Die Flagellaten der Kultur sind charakterisiert durch die Lagerung des Blepharoplasten; derselbe liegt entweder vor oder neben dem Hauptkern. Die undulierende Membran ist kaum ausgebildet, der Körper verjüngt sich ganz spitz nach vorn und entspricht in jeder Beziehung der Form von Crithidien. Auch die Bewegung ist die typische Crithidienbewegung. Außer diesen Formen, die man häufig in Zweiteilung antrifft, und die in der Größe und Breite sehr differieren können, sieht man manchmal auch ganz runde kleine Formen mit langer freier Geißel; es handelt sich vielleicht um Degenerationsformen. Die Flagellaten enthalten oft Granula, in älteren Kulturen auch große lichtbrechende Vakuolen, die offenbar auf einer Entmischung des Protoplasmas durch Alter oder Nahrungsmangel beruhen.

Die Lebensfähigkeit der Kulturen hängt im wesentlichen von der Feuchtigkeit ab. Anfangs wachsen die Flagellaten nur im Kondenswasser, um dann als feuchtglänzender grauweißer Belag auch von ihm aus auf die Agaroberfläche hinaufzuwuchern. Trocknet das Röhrchen aus, so degenerieren die Formen und man sieht dann unzählige granulierte Kugeln; zunächst sehen die Kugeln aus, als ob sie eine Membran hätten: es ist nicht auszuschließen, daß vielleicht eine Cystenbildung statthat. Solange noch bewegliche — wenn auch vakuolisierte — Formen zu finden sind, gelingt die Überimpfung in unzähligen Generationen; durch Zusatz von neuer Kondensflüssigkeit konnte ich häufig alte Kulturen „auffrischen". [Bei 37° geht die Entwicklung und Vermehrung bedeutend rascher vor sich, aber die Kulturen sterben schon nach wenigen Wochen ab.]

Es gelingt mit den Kulturflagellaten Ratten zu infizieren. Je älter die Kultur und je älter die Generation der Kultur, desto länger dauert dann die Inkubationszeit. Schließlich sind die Kulturen nicht mehr infektiös; Novy und Mc Neal fanden die 136. Generation nicht mehr übertragbar. Mir selbst mißlang einmal die Infektion bereits mit einer mehrere Monate alten von Flagellaten wimmelnden ersten Generation.

Mc Neal und Novy hatten auch angegeben, daß sie mit dem Filtrat des Kondenswassers durch Berkefeld-Filter Ratten infizieren konnten, also filtrierbare Formen noch in der Kultur enthalten sein müssten. Der Versuch ist mir und anderen bei der Nachprüfung nie geglückt.

Die genaue Entwicklung in der Kultur von Anfang an zu verfolgen und die einzelnen Vorgänge an den Flagellaten in ein Schema zu bringen, ist bisher nicht gelungen, (u. a. gibt Rosenbusch (148) verschiedene Details): die Formen sind so überaus mannigfaltig und Wachstum und Degeneration stets miteinander vereint, daß es schwer wird, morphologische Details genauer zu formulieren.

Die Übertragung des *Trypanosoma lewisi.*

Bei der großen Verbreitung des *Trypanosoma lewisi* lag es nahe, an einen ebenfalls weit verbreiteten Ektoparasiten der Ratten als Überträger zu denken. Da die Frage

noch immer nicht völlig geklärt ist, erscheint es am zweckmäßigsten, die hauptsächlich in Betracht kommenden Arbeiten selbst kurz anzuführen.

Rabinowitsch und Kempner (144) konnten durch Injektion von zerzupften Flöhen unter 9 Fällen 5 mal positive Resultate erhalten, mit Rattenläusen keine; auch von infizierter Ratte abgesammelte Flöhe waren in einem Versuch infektiös. Sivori und Lecler (168) konnten diese Versuche bestätigen. Im Magen von Rattenläusen sahen Laveran und Mesnil Trypanosomen.

Die erste systematische Untersuchung mit letzteren stammt von v. Prowazek (142); er fand als häufigsten Parasiten eine Laus *Haematopinus spinulosus* (Burmeister). In dieser konnte er eine Weiterentwicklung und Vermehrung der Trypanosomen beobachten. Er fand zunächst eine Reduktion der beiden Kerne, dann folgte eine feine Differenzierung der Geschlechtsformen, wobei die Männchen, die äußerst selten gefunden werden, schmäler werden und sich schließlich als ganz schmale Trypanosomen mit einem leichtgewellten, schmalen dunklen Kernbande darstellen. Den äußerst



Fig. 3. Entwicklungsformen von *Trypanosoma lewisi* in der Rattenlaus nach Prowazek. *a—c* Ausbildung männlicher Formen. *d* Copulation. *e* Trypanosoma-Ookinet. *f* und *g* Involutionsformen. Vergr. 2250 : 1.

selten zu beobachtenden Befruchtungsstadien folgt die Ookinetenbildung. Der Ookinet entwickelt sich dann wieder unter Ausbildung des Geißelapparates zu einem Trypanosom. Außerdem sah v. Prowazek auch Stadien der Parthenogenese sehr häufig in den Läusen. Auf späteren Stadien der Verdauung beobachtete er außer zahlreichen Teilungsstadien, festsitzende Formen von charakteristischem Aussehen mit verkürztem verdichteten Geißelapparat und neben dem Hauptkern gelegenem Blepharoplasten. Von solchen Formen sah er besonders im Endteil des Magendarmes, besonders in der Nähe der Malpighi'schen Gefäße, das Epithel von ganzen Parasitengruppen besetzt. Neben diesen crithidiaähnlichen Formen, die noch einen kleinen Geißelapparat besitzen, sah er noch kleine ganz geißellose tief zwischen den Zellen eingekeilt oder frei im Darmlumen, in welchem Falle sie mit einer rötlich gefärbten Schutzhülle umgeben waren.

Von v. Prowazek war hiermit zum ersten Male die geschlechtliche Weiterentwicklung und Vermehrung eines Trypanosoms im Insekt beobachtet worden.

Die Übertragung gelang ihm nicht, er nahm aber auf Grund einer Beobachtung an, daß die Flagellaten durch das Epithel des Enddarmes in die Leibeshöhle gelangen und wieder nach vorne geführt werden. Vielleicht würden sie dann in den Larynx kommen, um beim Saugakte bei der ersten Kontraktion in die Blutbahn des Wirtstiers hineingepreßt zu werden.

Die Untersuchungen v. Prowazek's wurden durch diejenigen von Baldrey (2) und Rodenwaldt (146) bestätigt und zum Teil erweitert. Morphologisch hat Rodenwaldt eine große Zahl charakteristischer Entwicklungsstadien beobachtet und abgebildet, deren letztes Stadium ganz winzige Flagellaten darstellen, von ihm als Crithidien bezeichnet, aber der Lagerung der Blepharoplasten nach zum Teil als Trypanosomen anzusprechen (Textfig. 4); auch Baldrey bildet solche winzige Formen ab, die er in der Leibeshöhle fand und für die infektiösen Stadien hält; ihm gelang einmal die Übertragung mit Läusen, die 2 tagelang nach der Infektion an Mäuse, dann erst an die Versuchsratte angesetzt wurden; die Inkubation betrug 17 Tage. Er nimmt eine Entwicklungszeit von 8—10 Tagen an.

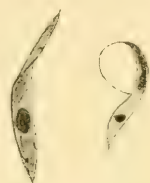


Fig. 4. Endstadien der Entwicklung von *Trypanosoma lewisi* in *Haematopinus spinulosus* nach Rodenwaldt.

Auch Breinl und Hindle (16) gelangen 3 von 4 Experimenten; die betreffenden Läuse hungerten 20 Stunden zwischen dem Ansetzen. Bei der mikroskopischen Untersuchung fanden sie Entwicklungsformen in Läusen vor, wenn diese an Ratten mit chronischer Infektion und zahlreichen Trypanosomen, die nicht mehr in Teilung waren, infiziert waren. Sie fanden Entwicklung von Crithidienformen (von ihnen als „Herpetomonas" bezeichnet).

Manteufel (l. c. 108) konnte sehen, daß von 9 Ratten, die zu 2 infizierten mit Läusen bedeckten gesetzt wurden, 6 infiziert wurden; auch beim Töten einer solchen Ratte infizierten die vom Kadaver abwandernden Läuse. Auch Übertragung durch Kratzen oder Fressen der Läuse wurde ausgeschlossen und trotzdem gelang die Infektion. Mit Fäces der Läuse gelang es nicht zu infizieren und Manteufel glaubt daher an eine Infektion beim Blutsaugen, nimmt aber an, daß Läuse wahrscheinlich nur durch „Inokulation infizierten Blutes" und bis höchstens 5 Tage nach der Infektion übertragen könnten.

Nuttal (135) gelang die Übertragung mit *Ceratophyllus fasciatus, Ceratophyllus agyrtes* und *Haematopinus spinulosus.* Eine Entwicklung erschien ihm wegen des Befundes von 3 Überträgern zweifelhaft.

Strickland (175), der zuerst weder in Flöhen noch Läusen etwas finden konnte, machte dann sehr sorgfältige „Serienversuche nach Kleine" gemeinsam mit Swellengrebel (177). Sie fanden eine Entwicklung sowohl in *Ceratophyllus fasciatus* (im Laboratorium gezüchtete Tiere), als in der Rattenlaus und zum Teil sogar in der Bettwanze. Sie fanden die vollständigste Entwicklung in Flöhen, wobei es über Crithidien und rundliche Formen, zuletzt wieder zur Bildung kleinster Trypanosomen kam (Textfig. 5). Die Entwicklung in Läusen entspricht nach ihnen der einer „natürlichen Kultur". Übertragungsversuche gelangen ihnen nur mit Flöhen *(Ceratophyllus fasciatus* und *agyrtes).* 16 % von 138 Experimenten waren positiv und dabei waren 2—20 % der benutzten Flöhe in-



Fig. 5. Entwicklung von *Trypanosoma lewisi* in *Ceratophyllus fasciatus* nach Swellengrebel und Strickland.

fektiös. Sie fanden, daß eine Infektion, sowohl nach längerem Intervall, als auch mechanisch stattfinde und halten die im Hinterdarm gesehenen kleinen Formen für die übertragbaren bei längerer Entwicklung; für ein Wandern derselben nach vorne fanden sie keinen Beweis; an eine Übertragung durch die Fäces glauben sie nicht, sondern eine solche durch Auffressen der infizierten Flöhe erscheint ihnen wahrscheinlicher. Strickland (176) glaubt letzteres neuerdings als den normalen Weg der Infektion bewiesen zu haben, indem er infizierte Flöhe 3 Tage hungern ließ und dann verfütterte; er nimmt an, daß dabei die kleinen Trypanosomen den Darmtrakt durchdringen. (s. u.)

Swingle (183) sah auch in Flöhen Crithidien und Cystenbildung.

Minchin und Thomson (122) gelang die Übertragung mit gezüchteten Flöhen in „Serienversuchen nach Kleine". Als minimale Entwicklungszeit nehmen sie 6 Tage an; die Flöhe blieben lange Zeit infektiös, z. B. konnten in einer Serie in 1½ Monaten 15 Ratten infiziert werden. Niemals kam es zu einer direkten Übertragung. Eine Vermehrung sahen sie besonders im Rectum, wo sie große Massen von Crithidien an den Wänden zwischen den Rectaldrüsen trafen. Neuerdings (123) konnten sie ihre Versuche erweitern und vor allem Strickland's Annahme der „Freßinfektion" widerlegen. Sie erhielten nämlich Serieninfektionen mit nur 1 infiziertem Floh. In einem Serienversuch infizierte 1 Floh in 2 Monaten 7 Ratten, in einem anderen 1 Floh 3 Ratten; interessant ist, daß dazwischen eine Anzahl Ratten gesund blieben, daß der Floh also nicht bei jeder Mahlzeit infektiös wirkt. Sie nehmen an, daß die kleinen Trypanosomen regurgiert und beim Biß in die Wunde gebracht werden.

Zu obigen Versuchen sei bemerkt, daß spontane Crithidieninfektion bei Haematopinus bisher niemals (auch in den Kontrollen obiger verschiedener Autoren nicht), wohl aber bei Flöhen beobachtet ist; in den Versuchsanordnungen von Swellengrebel und Strickland und vor allem von Minchin und Thomson ist sie aber als sicher auszuschließen.

Fast alle obige Autoren haben schon darauf aufmerksam gemacht, daß die Zahl der positiven Versuche sehr von der Jahreszeit abhängt und es ist fast ganz sicher, daß diese und die mit ihr zusammenhängende Art der Ratteninfektion, worauf besonders Petrie und Avari (139) hingewiesen haben, von größtem Einfluß für die Übertragung ist. Rodenwaldt (l. c.) hält es für wahrscheinlich, daß die Ratten in frühester Jugend während der Säugezeit — wo die Mutter sich der Läuse nicht erwehrt — infiziert werden. Meines Erachtens dürften auch an den verschiedenen Orten entweder Flöhe oder Läuse als Parasiten überwiegen und auch so wechselnd als Überträger in Betracht kommen.

Die Übertragung durch echte Zwischenwirte, in denen eine Entwicklung stattfindet, ist für *Trypanosoma lewisi* als erwiesen anzusehen und zwar können sowohl Rattenflöhe als Rattenläuse Zwischenträger sein. Die Entwicklung, die noch nicht in allen Stadien bekannt ist, ist wohl sicher eine sexuelle, wie v. Prowazek aus den von ihm zuerst gesehenen Formen schloß. Da auch in künstlichen Kulturen geschlechtliche Vorgänge vorkommen, ist die Frage, ob es sich um eine „Kultur in vivo" handle, sekundärer Art.

Übertragungen auf mechanische Weise (Kontakt, Wunden, per os usw.) kommen vor, sind aber sicher in natura sehr selten.

Trypanosoma brucei.

Das Trypanosom wurde 1894 von Bruce bei einer Tierkrankheit Afrikas entdeckt, die unter dem Namen Nagana oder Tsetsekrankheit schon seit längerer

Zeit bekannt war. LIVINGSTONE hatte bereits bei seiner Afrikadurchquerung zahlreiche Rinder an der Seuche verloren und berichtet, daß sie durch den Stich der sog. Tsetsefliegen hervorgerufen würde. BRUCE, der im Zululand die Seuche erforschte, entdeckte die Erreger und gab eingehende klinische Schilderungen. Bald wurde sein Befund aus vielen Teilen Afrikas bestätigt und es wurde auch meist der Zusammenhang mit der Tsetsefliege konstatiert.

Neuerdings ist es fraglich geworden, ob wir es in all diesen Fällen mit dem echten *Trypanosoma brucei* zu tun haben. Ein Teil der afrikanischen Säugetiertrypanosomen kommt in Gegenden vor, in denen Tsetsefliegen fehlen, andere zeigen Abweichungen im morphologischen und biologischen Verhalten. NOCHT und Verf. (132) haben seinerzeit deshalb vorgeschlagen, diese Seuchen vorläufig als „Naganagruppe" zusammenzufassen: in diese Gruppe ließen sich heute nur die Trypanosomiasen einreihen, bei denen Tsetsefliegen als Überträger in Betracht kommen; besser werden sie sich bis jetzt nur als „Pathogene Säugetiertrypanosomen Afrikas" (s. Einteilung S. 263) gruppieren lassen. In diesem Abschnitt soll zunächst das echte *Trypanosoma brucei* und der Verlauf der echten Nagana abgehandelt werden.

Klinik der Nagana.

Die Nagana kann alle unsere Haussäugetiere befallen. Einzelne davon (Schweine; Ziegen) sind sehr widerstandsfähig dagegen, während besonders bei Pferden und Rindern die Seuche praktisch von größter Wichtigkeit ist. Bei wilden Tieren ist die Infektion auch bekannt — zuerst durch BRUCE nachgewiesen —; besonders bei Antilopen Büffeln, Wildschweinen, Hyänen sind gleiche Trypanosomen gefunden.

Die Nagana verläuft als unregelmäßiges Fieber, bei dem unter zunehmender Kachexie und Anämie mit zeitweisem Auftreten von Ödemen meist der Tod früher oder später eintritt.

Am akutesten verläuft die Krankheit beim Pferde. Nach einer Inkubation von 1—2 Wochen zeigen sich die ersten Symptome durch eine Schwerbeweglichkeit und rasche Ermüdung. Bald tritt Abmagerung ein, flüchtige Ödeme besonders an Augenlidern, abhängigen Partien des Bauches, Genitalien, zeigen sich; das Fell wird struppig, es kommt zu Haarausfall. Manchmal kommt es auch zu schleimig-eitriger Sekretion aus Mund-, Nasen- und Augenschleimhaut. Unter Zunahme der Symptome kann es ganz rasch in 1—2 Wochen oder auch erst nach Monaten zum Tode kommen.

Beim Rind verläuft die Krankheit häufig chronischer, die Symptome sind im allgemeinen dieselben. Ich sah besonders raschen Verlauf bei importierten edlen Rassen, andererseits konnte ich Trypanosomen vom Typus des *Trypanosoma brucei* einmal bei 2 eingeborenen Rindern finden, die noch nach 8 Monaten keinerlei Krankheitszeichen aufwiesen.

Bei Maultieren, Eseln, Schafen, Ziegen ist der Verlauf meist recht chronisch. Es kommen aber wahrscheinlich unter allen Tierarten Fälle vor, bei denen es nur zum Ausbruch geringer Krankheitserscheinungen und dann zur klinischen Ausheilung, eventuell überhaupt zum Auftreten von Symptomen gar nicht kommt (Parasitenträger!); besonders die wilden Tiere scheinen zu letzterer Kategorie zu zählen.

Morphologie und Biologie des *Trypanosoma brucei*.

Die Größe des *Trypanosoma brucei* schwankt etwa zwischen 25 und 30 μ, die Geißel mitgemessen. LAVERAN und MESNIL (l. c.) gaben schon an, daß bei Ratten,

Meerschweinchen und Hunden die Größe meist geringer sei als bei Pferden und Eseln. Ich sah in den verschiedenen Perioden der Erkrankung bei ein und demselben spontan erkrankten Tier bald größere bald kleinere Formen auftreten.

Das *Trypanosoma brucei* ist bedeutend breiter als *Trypanosoma lewisi*, ca. $1\frac{1}{2}$ bis $2\frac{1}{2}$ μ breit.

Die undulierende Membran ist sehr gut ausgebildet, die freie Geißel meist nicht sehr lang. Der Hauptkern liegt ungefähr in der Mitte, der Blepharoplast nahe dem meist abgestumpften hinteren Ende.

Die oben beschriebenen bei der Färbung auftretenden Unterschiede, die zur Annahme von Geschlechtsunterschieden geführt haben, sind bei *Trypanosoma brucei* zuerst von Ziemann (l. c. 199) beobachtet worden. Die Teilung des *Trypanosoma brucei* ist im Tierkörper eine Zweiteilung; Teilungen finden sich in jedem Stadium der Erkrankung, besonders zu Zeiten, in denen das Blut von Trypanosomen schwärmt, in großer Zahl.

Im natürlich infizierten Tier findet man das *Trypanosoma brucei* vor allem im Blute, es ist daselbst aber nicht stets sehr häufig, sondern es kommen gewisse Schwärmperioden vor, die meist mit dem Eintritt höheren Fiebers im Zusammenhang stehen. Bei der allgemeinen Biologie ist schon erwähnt, daß auch in den verschiedensten Ex- und Transsudaten Parasiten vorkommen (über den Befund bei der Obduktion s. später).

Die künstliche Infektion mit *Trypanosoma brucei* gelingt sehr leicht vor allem bei den Tieren, die der natürlichen Infektion ausgesetzt sind, man kann daher den Verlauf der Erkrankung an solchen sehr gut verfolgen. Man kann aber überhaupt fast alle Säugetiere künstlich mit *Trypanosoma brucei* infizieren. Bei den in natura weniger empfänglichen Tieren verläuft auch die künstliche Infektion entsprechend, vor allem kommt es bei Ziegen, Schafen und Schweinen häufig zur Spontanheilung.

Weiße Ratten und Mäuse sind sehr empfänglich und man kann durch Passagen schließlich die Virulenz bis zu einer Standardvirulenz steigern, die in wenigen Tagen zum Tode führt. Bei Kaninchen verläuft die Krankheit meist sehr langsam, ca. 3—6 Wochen im Mittel; der Parasitenbefund im Blut ist meist sehr spärlich; ganz ähnlich verhalten sich Meerschweinchen, bei denen die Infektion manchmal erst in mehreren Monaten tödlich endet.

Die klinischen Erscheinungen bei den künstlich infizierten Tieren entsprechen im wesentlichen denen bei natürlicher Infektion. Ödeme, Haarausfall und eine Keratitis sind ein sehr charakteristisches Symptom beim Kaninchen.

Über die künstliche Infektion von Vögeln hat zuerst Schilling (160) berichtet, der bei Gänsen eine Infektion erhielt, Mesnil und Martin (119) konnten dies bestätigen; Durham (45) gelang die Infektion von *Falco tinnunculus* und Goebel (56) die von Hühnern. In den Fällen waren die Parasiten nur durch Säugetierimpfung nachweisbar. Schilling sah Todesfälle bei Gänsen und Goebel zweimal bei Hühnern.

Eine Übertragung auf verschiedene Kaltblüter ist Wendelstadt und Fellmer (l. c. 190 und 191) gelungen und zwar auf Nattern, Schildkröten, Erdmolche usw. Bei Nattern bilden sie Teilungsstadien ab, was aber nicht beweist, daß es wirklich zur Vermehrung kam (s. überlebendes Blut). Auch in nichtstechenden Insekten konnten sie das Virus bis 7 Tage konservieren. Es ist, abgesehen von der ersten rückgeimpften Ratte, eine Virulenzsteigerung beobachtet worden. Laveran und Pettit (l. c. 88) machen auf verschiedene Fehlerquellen aufmerksam.

Durch *Trypanosoma brucei* verursachte pathologische Veränderungen.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei Tieren, die an *Trypanosoma brucei* verstorben sind, beruhen auf den schon klinisch erkennbaren Ödemen in den Geweben, die aber fehlen können, ferner in Flüssigkeitsergüssen in Bauchhöhle, Perikardial- und Pleuralhöhle. Von den Organen ist das lymphatische System vor allem ergriffen. Ein Milztumor ist fast konstant vorhanden. Man findet zahlreiche Reste zerstörter Parasiten in der Milz und die Frage, ob hier ihre Vernichtung durch Phagocytose oder durch trypanolytische Eigenschaften statthat, ist, ohne definitiv entschieden zu sein, mehrfach erörtert worden (s. Sleep. sickn. Bullet. I S. 311).

Auch die Leber ist meist vergrößert und zeigt degenerative Prozesse; die Nieren erscheinen anämisch.

Ein häufiger Befund bei *Trypanosoma brucei*-Infektion ist eine interstitielle Keratitis. Nach Morax (126) wird sie verursacht durch Eindringen der Trypanosomen in die Interlamellarräume der Cornea, was eine Leucocytose und Gefäßentwicklung zur Folge hat. Es kann dabei zu völliger Zerstörung der Cornea kommen.

Von seiten des Zentralnervensystems sah Spielmeyer (171) bei *Trypanosoma brucei*-Infektion des Hundes Degenerationen im Gebiete der hinteren Rückenmarkswurzeln, der sensiblen Trigeminuswurzeln und im Opticus auftreten.

Die Parasiten finden sich nach dem Tode besonders in den bluthaltigen Organen, aber auch in den Exsudaten; von Organen besonders zahlreich im Knochenmark, hauptsächlich bei solchen Tieren, bei denen sie in vivo sehr spärlich im Blute sich finden.

Die Bildung spezifischer Substanzen durch *Trypanosoma brucei* und Immunitätserscheinungen.

Die Virulenz der verschiedenen Stämme von *Trypanosoma brucei* schwankt schon normalerweise beträchtlich. R. Koch (73) hat von dem Gedankengange ausgehend, daß sich vermittels Passage des Virus durch andere Tierarten für eine Art eine Abschwächung erzielen lasse, interessante Passageversuche gemacht. Er impfte virulente Rindertsetsetrypanosomen über Ratte und Hund wieder zurück auf 2 Rinder mit dem Ergebnisse, daß diese nicht erkrankten. Die 2 Rinder widerstanden auch der Einimpfung virulenten Tsetseblutes, beide Tiere lebten noch nach einem Jahre, eins konnte noch jahrelang weiterbeobachtet und öfters mit negativem Erfolge mit *Trypanosoma brucei* geimpft werden, noch nach 6 Jahren war es völlig gesund.

Ähnliche Passageversuche wurden dann gleichfalls mit günstigen Erfolgen von Schilling, Martini, Panse u. a. angestellt. Es wäre somit die Möglichkeit einer aktiven Immunisierung gegeben gewesen; aber in einzelnen Fällen zeigte sich, daß der Schutz gegen virulente Stämme nicht immer genügte; dazu kommt, daß Tiere, die auf solche Weise aktiv immunisiert sind, trotzdem Parasitenträger bleiben, wie sich durch Verimpfung auf empfängliche Tierarten zeigen läßt. Es ist daher eine praktische Verwendung der Methode ausgeschlossen.

Das Serum mit Nagana infizierter Tiere, besonders solcher, bei denen die Infektion chronisch verläuft, zeigt gewisse spezifische Eigenschaften gegenüber *Trypanosoma brucei*, einerlei ob das Tier genest oder der Infektion erliegt; durch wiederholte Impfungen mit dem Erreger kann die Wertigkeit dieser Sera noch gesteigert werden. Diese Beobachtungen wurden besonders durch Martini (111), Kleine und Möllers (67), Laveran und Mesnil (85), Mesnil und Brimont (117, 118)[1]) angestellt.

[1]) Literatur bei letzteren.

Mit dem Serum solcher Tiere lassen sich kleine Versuchstiere gegen die Infektion schützen, wenn man es 24 Stunden vorher in genügender Dosis injiziert oder das Virus mit dem Serum gemischt einspritzt oder in seltenen Fällen auch (s. KLEINE und MÖLLERS), wenn es 24 Stunden nach der Infektion injiziert und die Einspritzung wiederholt wurde.

Das Serum ist in gewissem Grade spezifisch, übt aber auch eventuell Wirkung auf andere Arten aus (KLEINE und MÖLLERS, MESNIL und BRIMONT); nach den Versuchen von MESNIL und BRIMONT kann die Reaktion daher eventuell zu differential-diagnostischen Zwecken herangezogen werden.

DIESING (44) hat bei einem praktischen Versuch Erfolge mit der Methode gehabt, indem er Rinder vorübergehend gegen Tsetse schützte durch prophylaktische Impfung mit Eselimmunserum.

Die Tatsache, daß trotz des Vorhandenseins dieser Schutzstoffe die ursprünglich befallenen Tiere selbst meist zugrunde gehen, erklärt KLEINE damit, daß bei deren Trypanosomen vielleicht eine Gewöhnung an die Antikörper stattfinde, eine „aktive Immunisierung der Protozoen" (RÖSSLE). „Werden die aktiv immunisierten Trypanosomen auf ein neues normales Wirtstier verpflanzt, so verlieren ihre Nachkommen natürlich bei der fortschreitenden Teilung immer mehr die ererbte Immunität und es nimmt nicht wunder, daß das spezifische Serum jetzt prompt auf die Nachkommen jener Trypanosomen wirkt, auf welche selbst es einen Einfluß nicht ausübte." Daß aber nicht stets alle Trypanosomen diese erworbene Eigenschaft verlieren, geht aus den Versuchen MESNIL's und BRIMONT's (l. c.) hervor, denen es gelang, aus Immunserum liefernden Tieren Trypanosomenstämme zu isolieren, die gegen das Serum dieser selben Tiere refraktär waren; diese „Serumfestigkeit" konnte durch lange Passagereihen bei Mäusen bewahrt werden. Wie eng begrenzt aber diese Serumfestigkeit ist, geht daraus hervor, daß ein vom Immunziegenbock herrührender Stamm nicht refraktär gegen Immunserum vom Hund war und umgekehrt; es war sogar der Ziegenstamm, der gegen das gleichzeitig mit ihm von der Ziege entnommene Serum sehr resistent war, nicht mehr resistent gegen das Serum einer späteren Blutentnahme.

Bei Untersuchung der Wirkungsweise der Immunsera fanden MESNIL und BRIMONT, daß sie in vitro keinen nennenswerten Einfluß auf die Trypanosomen ausübten; es fand aber eine Bindung statt, derart, daß mit Serum eine gewisse Zeit zusammengebrachte und nach Trennung von ihm injizierte Trypanosomen nicht mehr infizierten. Bei Einverleibung des Gemisches in die Bauchhöhle von Meerschweinchen sahen sie, daß die Trypanosomen rasch phagocytiert wurden. Die Immunsera vertragen Erwärmung auf 56—64°. Die Autoren schließen, daß die Immunstoffe komplexer Natur seien, ähnlich wie die bakteriellen.

Eine Wirkung von Immunseren in vitro war entgegen obigen Beobachtungen von anderen Autoren gesehen worden, und zwar eine Agglomeration und Abtötung von SCHILLING (l. c.). LAVERAN und MESNIL hatten bereits bei *Trypanosoma lewisi* ähnliche Beobachtungen gemacht. Die trypanolytische Wirkung von solchen Immunseren konnten viele Beobachter bestätigen.

LEVADITI und MUTTERMILCH (93 und 94) studierten zuerst bei Nagana die Wirkung von Leucocyten in Gegenwart von Immunseren genauer. Brachten sie trypanosomenhaltiges Blut mit Immunserum vom Naganameerschwein (oder Serum des chronisch kranken M.) und normalen Meerschweinchenleucocyten, die bei 56° inaktiviert waren, zusammen, so beobachteten sie 1. Anheftung der Trypanosomen mit dem geißelfreien Ende an die Leucocyten; 2. Ausstrecken von Pseudopodien seitens der Leucocyten und allmähliche Phagocytose. Sobald dabei die Kernpartie von der Phagocytose erreicht war, wurden die Trypanosomen unbeweglich und transparent (Trypanolyse), also noch bevor sie ganz phagocytiert waren. War die Phagocytose

abgeschwächt, so trat die Auflösung der angehefteten Trypanosomen ganz außerhalb der Leucocyten ein. Später fanden sie, daß die benutzten Leucocyten nicht lebend zu sein brauchten, sondern auch im Eisschrank aufbewahrte wirksam waren, ferner daß sie nicht von der gleichen Tierart zu sein brauchten wie das Immunserum. Bei Heranziehen anderer Trypanosomenarten fanden sie, daß die Reaktion streng spezifisch ist und somit zur Differentialdiagnose mit herangezogen werden kann. LEGER und RINGENBACH (90) fanden bei der Nachprüfung, daß die Reaktion nicht ganz spezifisch sei, daß man aber danach gewisse Trypanosomengruppen abgrenzen könne. Sie erhielten positive Reaktion mit Nagana-Serum gegenüber *Trypanosoma brucei, togolense* und *evansi* und ungefähr dasselbe mit Surraserum, während beide Sera *Trypanosoma gambiense, equinum* und *congolense* unbeeinflußt ließen.

Ähnlich wie in vivo konnte auch in vitro von LEVADITI und MUTTERMILCH (92), sowie LEVADITI und MC INTOSH (91) gezeigt werden, daß Trypanosomen gegen die trypanolytischen Eigenschaften spezifischer Sera gefestigt werden konnten und die Festigkeit durch eine Reihe von Passagen gewahrt blieb.

Von anderen Untersuchungen auf spezifische Wirkung in vitro sei erwähnt, daß es Verf. (l. c. 113) einmal gelang, mit Naganahundeserum und durch Trypsin verdaute, rein zentrifugierte Nagana-Trypanosomen Präzipitine nachzuweisen; die Reaktion war spezifisch, wie Kontrollen zeigten.

Verhalten von *Trypanosoma brucei* in der Kultur.

Auf dem NOVY MC NEAL'schen Nährboden ist es diesen Autoren zuerst gelungen, *Trypanosoma brucei* zur Vermehrung zu bringen. Dasselbe ist jedoch viel schwieriger zu züchten als Trypanosoma lewisi. Von den angelegten Kulturen geht überhaupt meist nur ein geringer Prozentsatz an. Die Entwicklung in der Kultur bleibt auch dann meist viel geringer, die Flagellatenhaufen werden nie so zahlreich, dabei ist auch ihre Anordnung nicht so regelmäßig wie bei *Trypanosoma lewisi,* die Geißeln sollen dabei öfters nach außen gelagert sein. Die Individuen in den Kulturen degenerieren sehr bald und die Lebensdauer derselben beträgt selten über 2 Monate. Die jungen Kulturen sind meist infektiös und die Impfung von Kultur zu Kultur ist den amerikanischen Autoren auch in vielen Generationen gelungen.

Versuche mit den Kulturen spezifische Reaktionen auszulösen waren in der Regel negativ, doch berichten obengenannte Autoren, daß sie mit durch Hitze abgetöteten Kulturen bei Meerschweinchen außer Fieber und Abmagerung auch lokale Ulzerationen an der Impfstelle gesehen haben.

Die Übertragung von *Trypanosoma brucei.*

Es ist oben bereits erwähnt, daß die Tsetsekrankheit mit bestimmten Stechfliegen, Glossinen, in Zusammenhang gebracht wird. BRUCE konnte den Zusammenhang der Seuche mit Glossinen und zwar mit *Glossina morsitans* in Südafrika sicherstellen. Sobald er gesunde Pferde von naganafreien Berggegenden in die Ebene in sog. „flybelts" brachte, wurden sie infiziert, auch wenn er die Tiere weder grasen noch trinken ließ. Andererseits konnte er mit Fliegen, die er an den verseuchten Plätzen fing, Tiere oben in den gesunden Bergen infizieren. Derartige Beobachtungen sind im Laufe der Jahre noch zahlreich gemacht worden und es zeigte sich als höchstwahrscheinlich, daß auch andere Glossinenarten, so *Glossina palpalis* in Uganda (GREIG und GRAY), *Glossina brevipalpis* (früher für *fusca* gehalten) und *tachinoides* im Usambaragebiet D.-O.-Afrikas (KOCH und STUHLMANN), als Überträger wirken könnten.

Zu entscheiden blieb die Frage, ob diese Insekten rein mechanisch übertragen, oder ob in ihnen eine Entwicklung stattfände. Daß die Tsetsefliegen auch beim Fehlen kranker Haustiere Gelegenheit hätten sich zu infizieren, zeigte sich durch den Befund mit Trypanosomen gleichen Aussehens infizierter wilder Tiere (s. oben).

Nachdem zahlreiche Experimente keine einwandfreien Ergebnisse zeitigten, fand bei Glossinen, in Gegenden, wo Nagana endemisch war, zuerst R. Koch (74) im Magendarmkanal Trypanosomenformen, die er mit der Entwicklung in Zusammenhang brachte und bei denen er Geschlechtsdifferenzen — ähnlich wie vorher v. Prowazek bei *Trypanosoma lewisi* in der Laus — annahm.

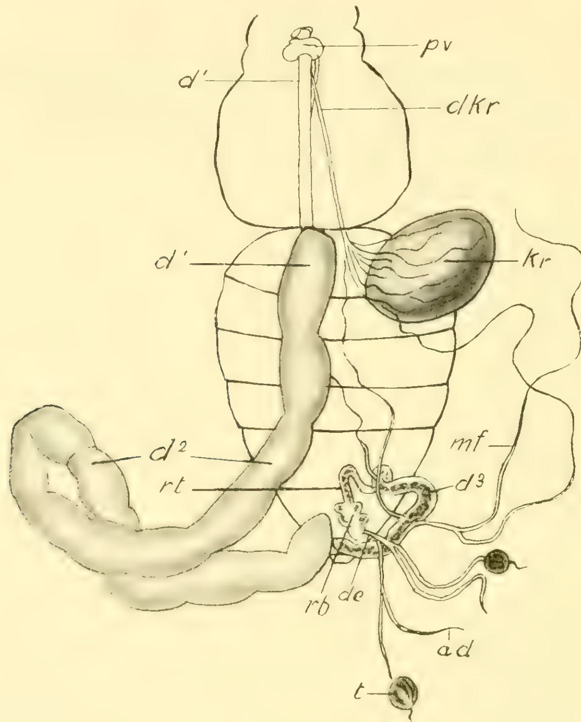


Fig. 6. Schematische Darstellung des Darmkanals einer ♂ Glossina, nach dem Herauspräparieren des gefüllten Darmes.

pv = Proventriculus.
d[1] = Vorderdarm.
d[2] = Mitteldarm.
d[3] = Hinterdarm.
mf = Malpighi'sche Gefäße.
rt = Enddarm.
rb = Rektalblase.
t = Hoden.
ad = Anhangdrüsen.
de = Ductus ejaculatorius.
dKr = Gang zum Kropf.
Kr = mit Luft gefüllter Kropf.

(Nach Stuhlmann.)

Diese Befunde und die gleichzeitigen von Gray und Tulloch (58) bei *Glossina palpalis* wurden durch den Flagellatenbefund bei Fliegen aus nicht infizierten Gegenden in ihrer Bedeutung zweifelhaft. Stuhlmann (178) veröffentlichte dann die Befunde an gezüchteten und künstlich infizierten Fliegen, wobei er fast alle von Koch beschriebenen Formen wiederfinden konnte. Keysselitz und Verf. (64) konnten am gleichen Orte an gefangenen Fliegen die Resultate bestätigen. Der Prozentsatz der

infizierten Fliegen betrug ca. 10 %, und auch bei den von STUHLMANN künstlich infizierten Fliegen kam es, nach einer Infektion des Hinterdarmes bei 80—90 °, zu einer solchen des Vorderdarms und Proventrikels in nur 10 %. STUHLMANN fand schon, daß die Infektion am sichersten gelänge, wenn man die gezüchteten Fliegen gleich bei der ersten Mahlzeit an infizierten Tiere füttere; KEYSSELITZ und Verf. schlossen aus ihren und der früheren Verff. Zahlen, daß wahrscheinlich eine Dauerinfektion überhaupt nur dann zustande komme, wenn die erste Mahlzeit die Fliegen schon infiziere. Der Beweis für diese Annahme steht noch aus.

Nach den Befunden STUHLMANN's kommt es zunächst im Hinterdarm zu einer Infektion und Vermehrung und die Infektion schreitet nach vorne fort. Bei den von KOCH, STUHLMANN, KEYSSELITZ und Verf. u. a. gesehenen Formen handelt es sich zunächst um breite plumpe Trypanosomen, erheblich größer als im Warmblüter, reich an blaugefärbtem Protoplasma und ziemlich großem rundlichen locker gefügtem Kern. Diese Formen finden sich auch öfters in Teilung und sind nach KOCH der w e i b l i c h e Typus. Die m ä n n l i c h e n Formen sind sehr schlanke Trypanosomen, sie haben kein blaugefärbtes Protoplasma und einen langen dünnen Chromatinkörper, der nach STUHLMANN bald 8 Chromosome hat, als auch deren bis 32, die paarweise



F i g. 7. Entwicklungsformen von *Trypanosoma brucei* in *Glossina brevipalpis* (*fusca*). *a*, *b*, *c* Formen aus Proventrikel einer künstlich infizierten Fliege. (Gefüttert am infizierten Hund 9., 12., 15., 18. IV., am gesunden 22. und 25. IV., getötet 27. IV. Alle Darmabschnitte hatten viele Trypanosomen, am meisten der Mitteldarm.) *d* Langes Trypanosom mit etwa 16 Chromosomenpaaren. *e* und *f* Kleine Flagellaten aus dem Rüssel. (Nach STUHLMANN. Vergr. 1700 ×.)

wie die Sprossen einer Leiter angeordnet sind; er fand sie nur in Ösophagus und Proventrikel. Als i n d i f f e r e n t e Formen betrachtet STUHLMANN solche, die arm an Ektoplasma sind, sich violett bis bläulich färben und ein geißelloses, meistens etwas ausgezogenes Hinterende haben. Teilungsstadien sind sehr häufig; er fand die Formen im ganzen Verdauungstrakt. A m ö b o i d e Formen sah STUHLMANN besonders bei hungernden Fliegen (KEYSSELITZ und Verf. sahen durch das Saugen den Prozentsatz mit Flagellaten infizierter Fliegen größer werden und nehmen an, daß amöboide Ruhestadien durch die Nahrungsaufnahme wieder beweglich werden). Die zuerst von KOCH beschriebenen kleinen Formen sah STUHLMANN nur im Rüssel, sie haben den Blepharoplasten meist vor, bisweilen neben dem Kern; KEYSSELITZ und Verf. fanden ganze

Agglomerate kleiner Trypanosomen an der Rüsselwandung und vermuten, daß sie sich direkt oralwärts von der Mündung der Speicheldrüsen festsetzen und beim Saugen mechanisch in die Wunde geschwemmt werden. Stuhlmann hält es nicht für unwahrscheinlich, daß diese kleinen Formen aus einer am Ende der Entwicklung im Fliegendarm stattfindenden Copulation hervorgehen.

Außerhalb des Darmes sah Stuhlmann niemals Trypanosomen, er fand aber ganz dicke Schichten davon im Darm zwischen dem Epithel und der peritrophischen Membran.

Bei all diesen Beobachtungen, die eigentlich schon keinen Zweifel mehr ließen, daß es sich um die Entwicklung von *Trypanosoma brucei* handle, fehlte das Schlußglied der Beweiskette, die Übertragung.

Der endgültige Beweis dafür, daß *Trypanosoma brucei* in den Glossinen eine Entwicklung durchmacht und erst nach längerer Zeit übertragen wird, ist Kleine (65) geglückt.

Kleine arbeitete mit *Glossina palpalis* aus einer naganafreien Gegend, indem er die Fliegen zuerst an infizierten und dann serienweise für lange Zeit stets wieder an frischen gesunden Tieren saugen ließ. Im ersten Versuch wurden die Fliegen am 15. Tage nach der letzten Trypanosomenmahlzeit, in einem zweiten am 18. Tage nach der letzten Trypanosomenmahlzeit infektiös und blieben es bei weiteren Mahlzeiten für längere Zeit. Dabei zeigte sich, daß nur ein geringer Prozentsatz der Fliegen die Infektion erworben hatte (von 20 am 66. Tage des 1. Versuchs durch Ansetzen an 20 Tiere untersuchten Fliegen waren nur 2 infektiös). Die Inkubationzseit war überraschend kurz, 5—11 Tage.

Es ist aber hierdurch bewiesen, daß 1. eine Entwicklung statthat und 2. die einmal erworbene Infektion eine für lange Zeit andauernde wird.

Durch die mikroskopische Untersuchung bei mit *Trypanosoma gambiense* infizierten Tsetsen wurde von Kleine und Taute (s. später) durch die Gleichheit der Entwicklungsformen auch der Beweis geliefert, daß die meisten der von früheren Autoren beschriebenen Formen in den Entwicklungskreis von *Trypanosoma brucei* gehören.

Die Entwicklung und Übertragung findet also nicht nur durch eine Glossinaart statt, sondern zweifellos durch *Glossina morsitans, tachinoides, palpalis* und *brevipalpis* (früher für *fusca* gehalten).



Fig. 8. *Glossina morsitans* (ca. 3 ×).

Auf die zoologischen Merkmale der Glossinen kann hier nicht eingegangen werden, es sei auf Austen, a Handbook of tsetseflies, London (Brit. Museum) 1911 verwiesen. Die für die Übertragung der Nagana in erster Linie in Betracht kommende *Glossina morsitans* zeigt Textfig. 8.

Daß auch andere Stechfliegen und eventuell auch Glossinen selbst auf rein mechanischem Wege die Nagana übertragen können, gilt durch verschiedene gelungene Versuche als sicher und muß auch als ganz natürlich erscheinen. Als solche Überträger kommen vor allem Stomoxys und Tabaniden in Betracht. Ich möchte erwähnen, daß ich in Tsetsegegenden Ostafrikas, in denen ein großer Prozentsatz von *Glossina brevipalpis* mit Trypanosomen infiziert waren, niemals in den mit ihnen

vergesellschafteten zahlreichen Tabaniden Flagellaten finden konnte. (Bruce fand in Uganda Crithidien in *Tabanus secundus*).

Die übrigen afrikanischen pathogenen Säugetiertrypanosomen.

In Afrika sind im Laufe der letzten Jahre zahlreiche Beobachtungen über Trypanosomiasis bei Haustieren gemacht worden, bei denen namentlich auf Grund morphologischen Verhaltens und Pathogenität für nur bestimmte Tiere neue Trypanosomenspecies als Erreger aufgestellt worden sind. So sicher es für einige dieser Arten ist, daß sie „gute“ Species sind, so wahrscheinlich erscheint es für andere, daß zwei oder drei besonders benannte zu einer Art zusammengefaßt werden müssen. Die Schwierigkeit besteht darin, daß alle Beobachtungen von den verschiedensten Bearbeitern, zum Teil unter schlechten Beobachtungsbedingungen gemacht worden sind und daher manche Angabe genauer Nachprüfung nicht stichhalten wird.

Versuche einer Gruppierung sind bereits früher von Montgomery und Kinghorn (125) vorgenommen worden, ohne aber völlig zu genügen.

Zu differentialdiagnostischen Zwecken benutzen seit langem Laveran und Mesnil (86) sog. „Kreuzinoculationen“, indem Tiere, besonders die gegen die meisten Trypanosomen sehr widerstandsfähigen Ziegen und Schafe, die die Infektion mit einem bestimmten Virus überstanden haben und dagegen bei Neuimpfung mit diesem refraktär sind, dann mit dem fraglichen Virus geimpft werden. Geht die Infektion an, so gilt das Trypanosoma als neue Art. Wenn auch bei Schafen und Ziegen in den meisten Fällen nach Überstehen einer Trypanosomiasis eine Immunität dagegen eintritt, so kann doch diese Prüfungsart als absolut zuverlässig nicht gelten, da das gleiche Virus verschiedener Passagen sich auch eventuell different verhalten kann.

Eine Gruppierung auf Grund der Überträger ist leider auch unzuverlässig, da die verschiedensten Glossinenarten als solche wirken können und die mechanische Übertragung durch andere Stechfliegen bei vielen Arten sehr häufig vorzukommen scheint. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es bei einzelnen Trypanosomen durch Mangel an echten Überträgern überhaupt zu einer Anpassung an die mechanische Übertragung gekommen ist.

Im folgenden sollen die wichtigsten afrikanischen Arten daher ohne den Versuch der engen Gruppierung kurz angeführt werden, verwandte Arten möglichst zusammen; bezüglich der zahlreichen „Abgrenzungsarbeiten“ sei auf die vorzüglichen Referate im Sleeping sickness Bulletin verwiesen.

Trypanosoma dimorphon (Dutton und Todd).

1903 beschrieben Dutton und Todd (47) Trypanosomen, die sie bei einer Pferdeseuche in Senegambien mehrfach beobachtet hatten. Es handelt sich um eine meist in mehreren Monaten tödlich verlaufende fieberhafte Cachexie, bei der im Gegensatz zur Tsetsekrankheit stets Ödeme fehlten.

Die Parasiten fanden sie in dreifacher Form im Blute bei kranken Pferden und künstlich infizierten Ratten: nämlich:

1. Im Anfang der Erkrankung 11—13 μ lange, 0,8—1 μ breite kaulquappenartige Trypanosomen mit ganz feiner kurzer Geißel. Die undulierende Membran ist wenig ausgebildet, der Blepharoplast sitzt nahe dem stumpfen Hinterende.

2. 26—30 μ lange und 1,6—2 μ breite Formen mit sehr langer Geißel, besonders zahlreich gegen das Ende der Erkrankung hin.

3. Formen mit dickem, kurzem („stumpy“) Körper und sehr kurzer Geißel von 16—19 μ Länge und 3,4—4,5 μ Breite.

DUTTON und TODD konnten Ratten (20—70)[1]. Mäuse (16—56), Meerschweinchen (29—31), Kaninchen (53), Hunde (19—36), Rinder (20—40), Schafe (182) infizieren. Affen blieben gesund, eine Ziege genas.

LAVERAN und MESNIL (86), denen von den Autoren ein Stamm geschickt wurde, konnten nur die lange und kurze Form finden und stellten fest, daß in beiden das Protoplasmaende mit dem Geißelende zusammen ende. Der Unterschied zwischen den „tadpole" und „stumpy" Formen erschien wohl auch DUTTON und TODD sehr gering, so daß sie selbst den Namen „Dimorphon" vorschlugen. Die Tierversuche von LAVERAN und MESNIL hatten etwas andere Ergebnisse und die mehrfach geäußerte Ansicht, daß ihr Virus ein anderes sei, als das ursprünglich beschriebene, ist wohl richtig. Der Vorschlag letzteres *Trypanosoma confusum* zu nennen, wurde nirgends anerkannt, da der Name schon für ein Vogeltrypanosom existiert. (Es wird vielfach als *Trypanosoma dimorphon* (Stamm LAVERAN und MESNIL) vom erstbeschriebenen unterschieden.)

HINDLE (62) hat bei *Trypanosoma dimorphon* einen Entwicklungscyklus im Warmblüter beschrieben, wobei runde cystenartige Formen und daraus wieder Trypanosomenformen entstehen. Unter den Trypanosomen unterscheidet er männliche und weibliche, die im Gegensatz zu diesem asexuellen Cyklus für die sexuelle Vermehrung im Überträger in Betracht kommen.

DUTTON und TODD hielten *Glossina palpalis* für den wahrscheinlichen Überträger, eventuell auch *Stomoxys*, ohne daß ihre Versuche positive Ergebnisse hatten. Dagegen berichteten BOUET und ROUBAUD (10) aus Dahomey, daß *Trypanosoma dimorphon* dort endemisch sei und daß sie mit wildgefangenen *Glossina palpalis* Hund, Schaf und junge Ziege infizieren konnten, während Meerschweinchen sich refraktär verhielten.

BRUCE, HAMERTON usw. (29) machten „Serienversuche nach KLEINE" mit einem als *Trypanosoma dimorphon* bezeichneten Trypanosom aus Uganda. In einem Versuch mit wildgefangenen *Glossina palpalis* wurden diese nach 27 Tagen infektiös, mit gezüchteten *Glossina palpalis* gelang von 4 Versuchsserien nur eine, bei der die Fliegen nach 14 Tagen infektiös wurden.

Es erschienen noch verschiedene Berichte, wonach *Trypanosoma dimorphon* in verschiedenen Gegenden Afrikas gefunden sein soll, so von BEVAN (9) in Portugiesisch Ostafrika und Zululand, von THEILER (184) aus benachbarten Gebieten. Ein in Sansibar von EDINGTON gefundenes Trypanosom stellten BRUCE und seine Mitarbeiter (18) gleichfalls zum *Trypanosoma dimorphon.*

Trypanosoma congolense (BRODEN).

BRODEN (17) fand diese Form im belgischen Congo zuerst bei Schafen und ihr Charakteristikum war bei geringer Größe, 10—20 μ Länge, 1,5—2,5 Breite, das Fehlen einer freien Geißel und einer wenig ausgebildeten undulierenden Membran. Bei Übertragung auf Affen und Meerschweinchen sah er anfangs Formen mit freier Geißel. Späterhin fand er auch bei anderen Tieren die gleichen Trypanosomen, die aber auch bei Übertragungen stets kurzgeißelig blieben. Ein vom Dromedar isolierter Stamm wird seit 1906 von LAVERAN und in unserem Institut fortgezüchtet; mit diesem Stamm sind zahlreiche Versuche angestellt worden, über die LAVERAN (80) und HÖHNEL (63) in größeren Arbeiten berichtet haben. Mäuse starben nach LAVERAN in 18—331 Tagen mit kolossalem Milztumor (*Trypanosoma dimorphon-*

[1]) Die Zahlen bedeuten bei diesen und anderen Infektionsversuchen die Tage bis zum Eintritt des Todes.

LAVERAN 12 Tage). Bei Ratten stieg die Virulenz allmählich, sie sterben bei uns jetzt meist nach 2—4 Wochen. Auffallend konstant ist die Virulenz für Meerschweinchen, die stets ungefähr in 14 (13—15) Tagen sterben. Während wir im ersten Jahre bei ihnen fast stets blutigseröse Exsudate in der Bauchhöhle fanden, öfters mit Milzruptur, sind diese in den letzten Jahren seltener geworden. Auch LAVERAN sah diese und Milz- und Leberrupturen. Gegenüber dem *Trypanosoma dimorphon* fand LAVERAN eine relative Resistenz gegen Atoxyl, während Auripigment bei *Trypanosoma congolense* wirksam, bei *Trypanosoma dimorphon* unwirksam war.

Der Größe nach schwankt *Trypanosoma congolense* ziemlich, und HÖHNEL unterscheidet große Formen von 18—24 μ Länge und 2—4 μ Breite, gegenüber kleinen von 11—15 zu 2—2,5 μ (Fig. 21, Taf. VI). Stets aber ist die undulierende Membran nur wenig ausgebildet und das Körperende ist bis zum Geißelende verfolgbar. Sog. Geschlechtsunterschiede sind bei *Trypanosoma congolense* äußerst deutlich, ferner neigt dies Trypanosom, von allen Arten mit denen ich gearbeitet habe, am meisten zu Involution und Degeneration; besonders in Kadavern findet man alle möglichen Formen, die cystenartig erscheinen können (HÖHNEL), dann auch besonders schöne Phagocytosen.

Früher ist bereits erwähnt, daß HÖHNEL *Trypanosoma congolense* in rote Blutkörperchen eindringen sah. Auch mir ist bei diesen Trypanosomen oft ein Haften und teilweises Eintreten in rote Blutkörper aufgefallen.

Gegen die von verschiedenen Autoren vermutete Identität von *Trypanosoma congolense* und *dimorphon* spricht das Verhalten im Tierversuch und gegen Medikamente; LAVERAN ist daher vollständig im Rechte, wenn er sich dagegen verwahrt, daß beide ohne weiteres als identisch erklärt werden.

FÜLLEBORN und Verfasser haben 1907 darauf aufmerksam gemacht, daß auch in Deutsch-Ostafrika kurzgeißelige Trypanosomen vorkommen, die vielleicht mit *Trypanosoma congolense* identisch sein könnten; von dort beschrieb auch OCHMANN (136) eine kurzgeißelige Form vom Schweine.

Trypanosoma pecorum (BRUCE).

Der von BRUCE und seinen Mitarbeitern (19) gemachte Vorschlag, unter dem Namen *Trypanosoma pecorum* das *Trypanosoma dimorphon, congolense*, die obengenannten von EDINGTON, THEILER, BEVAN und eine von ihnen in Uganda beobachtete Form zusammenzufassen, erscheint mir bisher zu weitgehend. Das von ihnen gesehene kurzgeißelige Trypanosom ist nicht pathogen für Meerschweinchen; eine primitive Kultur gelang. Als Überträger werden Tabanus und Stomoxys verdächtigt; mit ersteren mißlangen alle Versuche der direkten Übertragung, dabei wurden in ihrem Verdauungstrakt Crithidien gefunden (20).

Trypanosoma frobeniusi (WEISSENBORN).

Eine dem *Trypanosoma dimorphon* und *congolense* nahestehende Form, die bei Pferden aus dem Hinterland von Togo (eventuell in Timbuktu infiziert) gefunden wurde, hat neuerdings WEISSENBORN (192) genauer beschrieben und für den Fall, daß es eine selbständige Art sei, den Namen *Trypanosoma frobeniusi* dafür vorgeschlagen. Das Trypanosom ähnelt dem *Trypanosoma congolense* am meisten (Fig. 22—25, Taf. VI), doch erwiesen sich Meerschweine stets refraktär. Wichtig für die Beurteilung der Impfreaktionen bei Trypanosomen überhaupt ist, daß ursprünglich vom Pferd aus nur ein Hund (keine Ratte, Maus, Meerschwein) infizierbar war (Exitus nach 33 Tagen), später ein solcher nach Kaninchenpassage nur

vorübergehend spärliche Trypanosomen aufwies und einer nach Mäusepassage überhaupt sich refraktär verhielt. Es war schwach virulent für Kaninchen, Katze, Affe und Maus; nur bei letzteren kamen einzelne Todesfälle vor.

Trypanosoma pecaudi (Laveran).

(Erreger der Baléri.)

Unter dem Namen Baléri fanden Cazalbou und Pecaud eine Trypanosomiasis am oberen Niger und Volta, insbesondere bei Rindern und Equiden; aber auch andere Säugetiere sollen befallen werden. Das genauere Studium der Erreger verdanken wir hauptsächlich Laveran (81).

Das Trypanosom ließ sich auf Hunde (14—32), Meerschweine (18—91 im Mittel [40]), Ratten (12—39 [19]), Mäuse (17—34) übertragen.

Trypanosoma pecaudi tritt stets — in allen Tieren — in zwei Formen auf; die lange Form mißt 25—35 μ zu 1,5 μ und zeichnet sich durch eine lange freie Geißel aus. Die kurze Form mißt 14—20 μ zu 3—4 μ und hat keine freie Geißel, ihre beträchtliche Breite ist besonders charakteristisch.

Trotz der großen Ähnlichkeit mit *Trypanosoma dimorphon* konnte es Laveran durch Immunitätsreaktionen von ihm abgrenzen.

Als Überträger von *Trypanosoma pecaudi* kommen nach Bouet und Roubaud (11) *Glossina longipalpis* und *tachinoides* in Betracht, mit denen sie in Serienversuchen (mit gefangenen Fliegen) Meerschweinchen infizieren konnten, auch *Glossina palpalis* kann übertragen. Der Hauptüberträger ist aber *longipalpis*. In infizierten Fliegen wurden von Proboscis bis Hinterdarm Flagellaten gefunden, in Proboscis Leptomonas- und Trypanosomenformen.

Trypanosoma cazalboui (Laveran).

(Erreger der Souma.)

Ungefähr in demselben Gebiete, wie die Baléri, wurde eine andere Trypanosomiasis, Souma (Soumaya) beobachtet, die besonders Equiden und Boviden befällt. Kleine Wiederkäuer, Ziegen, Schafe, Antilopen infizieren sich leicht, während sich Hund, Affe, Kaninchen, Meerschwein, Ratte und Maus refraktär verhalten.

Trypanosoma cazalboui, wie Laveran den Erreger der Seuche genannt, mißt 21 μ zu 1,5 μ. Es hat eine wenig ausgebildete undulierende Membran und eine freie Geißel. Die Bewegung im frischen Blut ist äußerst lebhaft.

Trypanosoma cazalboui unterscheidet sich von *Trypanosoma evansi* durch sein Verhalten gegen obengenannte Versuchstiere, es ist auch nicht mit dem Erreger der Mbori identisch.

[**Mbori** ist gleichfalls in den obengenannten Gegenden festgestellt worden und zwar von Cazalbou (36), sein Erreger ist nach den Untersuchungen Laveran's und seiner Mitarbeiter nur eine etwas weniger virulente Varietät von *Trypanosoma evansi*.]

Übertragen wird *Trypanosoma cazalboui* nach den Versuchen von Bouet und Roubaud (10) und Bouffard (12, 13) an gefangenen und gezüchteten Fliegen durch *Glossina palpalis*. Die ersteren fanden, daß die Fliege nach 6 Tagen infektiös wird und eine Entwicklung nur in Proboscis und Hypopharynx statthat, sie fanden in der Proboscis Massen von Leptomonasformen. Im Hypopharynxkanal glichen die Flagellaten ganz den Trypanosomen des Blutes. Im Darmkanal fanden sie niemals eine Vermehrung.

BOUFFARD fand in seinen „Serienversuchen nach KLEINE“ mit gezüchteten Glossinen Infektiosität vom 7. Tage ab, die bei einer Serie von 8 Tieren erhalten blieb. Die Inkubation betrug 9—10 Tage. Er fand auch, daß Saugen an refraktären Tieren nach erfolgter Infektion die Entwicklung nicht hemme. 3 Wochen lang, nach der Infektion am Schaf, an Kaninchen gefütterte Glossinen, erwiesen sich nachher doch als infektiös. Auch BOUFFARD fand nur in der Proboscis Flagellaten und zwar meist kleine Crithidienformen, seltener Trypanosomen.

Auch *Stomoxys* kann nach BOUFFARD *Trypanosoma cazalboui* übertragen.

Über die eventuelle Identität von *Trypanosoma cazalboui* und *Trypanosoma vivax* (ZIEMANN), siehe den folgenden Abschnitt. Ein von BRODEN beschriebenes *Trypanosoma angolense* hält dieser selbst für identisch mit *Trypanosoma cazalboui.*

Trypanosoma vivax (ZIEMANN).

Dies Trypanosom wurde 1905 von ZIEMANN (198) aus Kamerun beschrieben, wo es als Erreger einer Trypanosomiasis von Schafen, Ziegen und Rindern vorkommt. Es mißt 18—26 μ (junge Formen 12 μ) zu 2—$2^1/_2$ μ. *Trypanosoma vivax* ist charakterisiert durch eine gering ausgebildete undulierende Membran und seine lebhafte Beweglichkeit.

Kleinere Laboratoriumstiere (mit Ausnahme grauer Ratten) waren unempfänglich, was das Trypanosom von *Trypanosoma evansi* und *brucei* unterscheiden läßt. ZIEMANN hielt Tabaniden oder Chrysops für die wahrscheinlichen Überträger.

Später wurden auch Trypanosomen aus anderen Gebieten Afrikas als *Trypanosoma vivax* angesprochen, so vor allem aus Uganda von BRUCE und seinen Mitarbeitern (22); diese geben genaue Abbildungen. Affen, Hunde, Kaninchen, Meerschweine, Ratten und Mäuse waren refraktär. Als Überträger fanden sie *Glossina palpalis.* Sie konnten mit gefangenen und gezüchteten Exemplaren Infektion erreichen. In den Versuchen mit letzteren wurden die Fliegen nach 4tägiger infektiöser Mahlzeit zwischen dem 11. und 30. Tag infektiös. Flagellatenentwicklung fand sich nur in der Proboscis und die Autoren halten diese Art der Entwicklung für charakteristisch für *Trypanosoma vivax* (*Trypanosoma cazalboui* dazu gerechnet).

In einem Falle gelang BRUCE usw. die Züchtung aus Ziegenblut. (Die abgebildeten Formen sind auffallend groß und erinnern sehr an die der harmlosen Rindertrypanosomen. Auf solche Arten müßte jedenfalls bei anderen Säugetieren auch einmal durch Kulturversuche gefahndet werden.)

Die vielfach ausgesprochene Ansicht, daß *Trypanosoma cazalboui* und *vivax* identisch seien — wonach letzterer Name die Priorität hätte — hat viel Wahrscheinlichkeit für sich; LAVERAN allerdings spricht sich sehr dagegen aus, um so mehr als ja mit dem echten *Trypanosoma vivax* neuerdings gar keine Versuche vorliegen.

Trypanosoma soudanense (LAVERAN)

nennt LAVERAN (l. c.) ein pathogenes Trypanosom von dem oberen Niger, das den Erregern der Mal de Zousfana und Debab (s. Seite 286) sehr nahe steht.

Trypanosoma togolense (MESNIL und BRIMONT)

schlagen MESNIL und BRIMONT (117) vor zur Bezeichnung des Erregers der Nagana Togo's, der sich bei der Immunitätsreaktion als verschieden von Surra- und Naganaparasiten erwies.

Trypanosoma nanum (Laveran).

Ein von Balfour im englisch-ägyptischen Sudan bei Rindern gefundenes Trypanosom von 14 μ Länge benannte Laveran (82) als *Trypanosoma nanum*. Balfour (4) konnte es nicht auf Hund, Kaninchen und Affe überimpfen; Wenyon hält bei Maultieren gefundene Trypanosomen für identisch damit. Bruce und seine Mitarbeiter (24) glauben auch in Uganda *Trypanosoma nanum* gefunden zu haben, das im Gegensatz zu ihrem *Trypanosoma pecorum* nicht für kleinere Versuchstiere pathogen war; den Überträger konnten sie nicht ermitteln.

Trypanosoma uniforme (Bruce).

Von Bruce und seinen Mitarbeitern (25) in Uganda bei Rindern gefundene Form, von 16—23,7 μ Länge. Das Trypanosom war übertragbar auf Rind, Ziege, Schaf aber nicht auf Affe, Hund, Meerschwein, Ratte, Maus. Es ähnelt sehr dem *Trypanosoma vivax*; die Überträger konnten nicht festgestellt werden.

Trypanosoma bovis (Kleine).

Kleine (66, 68) fand am Tanganyika bei kranken Rindern Trypanosomen von 21,5 μ Länge und 1,8 μ Breite, die sich nicht auf andere Tiere übertragen ließen. Es erinnert in seinem Verhalten an *Trypanosoma cazalboui*. Falls es sich um eine neue Art handelt, schlägt Kleine (l. c.) obigen Namen vor. —

Trypanosoma caprae (Kleine).

Am Tanganyika von Fischer und Fehlandt bei kranken Ziegen gefundenes Trypanosom und nur auf Ziegen und Schafe übertragbar. Größe 27 μ zu 2,1 μ mit Geißel; im Anfangsstadium auch kurzgeißelige Formen. Kleine schlug obigen Namen dafür vor.

Mal de la Zousfana und El Debab

sind bei Equiden bzw. Kameliden beobachtete Trypanosomiasen aus Algier, die der Surra nahezustehen scheinen (ebenso wie die schon genannte Mbori).

Trypanosoma evansi (Steel).

(Erreger der Surra.)

Griffith Evans, 1880 mit der Erforschung einer tödlichen Pferdeseuche im Punjab in Britisch-Indien betraut, fand bei dieser „Surra“ genannten Krankheit im Blute Parasiten, die er nach der Lebendbeobachtung für Protozoen und für die Erreger hielt. Klinisch verlief die Krankheit ganz ähnlich wie die Nagana als fieberhafte, mit Ödemen einhergehende Cachexie. Evans konnte die Krankheit durch Blutüberimpfungen übertragen und glaubte, daß sie durch Stechfliegen verbreitet würde. Steel, der 1884 eine ähnliche Seuche in Hinterindien erforschen sollte, fand die gleichen Erreger und nannte sie *Spirochaete evansi*, welcher Name späterhin in *Trypanosoma evansi* (Steel) umgeändert wurde.

Bald gewann den verschiedenen Berichten nach die Seuche in Ostasien weitere Verbreitung. 1899 wurde ihr Vorkommen aus Niederländisch-Indien gemeldet, wo

sie seitdem endemisch herrscht; Französisch-Indochina ist mit Surra verseucht,[1]) desgleichen verschiedene hinterindische Staaten. In Persien kommt sie nach Lingard auch vor. Durch Viehimporte wurden Australien, die Philippinen, Mauritius infiziert und auch ein Teil der Nordafrikanischen Trypanosomiasen ist zweifellos Surra.

Dies ist ungefähr die Verbreitung der Seuche. Infektiös ist dieselbe besonders für Equiden [es scheint überhaupt, daß Equiden besonders empfänglich für Trypanosomeninfektion sind], aber auch Kamele, Elefanten, Hunde und Rinder werden befallen.

Klinisch ist die Seuche, wie schon erwähnt, am ausgeprägtesten bei Equiden (Pferden und Maultieren).

Bei Kamelen verläuft die Seuche meist sehr chronisch; nach Lingard (100), dem wir die genauesten Studien über Surra verdanken, heißt sie im Punjab Tibersa d. h. 3 Jahre, nach Gaiger (55) kann sie sogar bis zu 4 Jahren dauern; die Kamele können genesen, aber durch Blutüberimpfung ist das Vorhandensein von Parasiten dann oft noch nachweisbar.

Auch Elefanten können spontan an Surra erkranken, die dann auch chronisch verläuft.

Unter Jagdhunden (Fox-hounds) sind wiederholt sehr akut verlaufende Epidemien beobachtet worden.

Bei Rindern verläuft die Krankheit meist sehr chronisch, macht oft sogar gar keine Symptome [Schein (159)]; insbesondere ist dies neuerdings auch vom indischen Büffel behauptet worden [Sowerby (170)], bei dem lediglich durch Blutüberimpfung die Parasiten nachgewiesen werden konnten. Zahlreiche Beobachtungen, die ersten schon von Lingard, weisen darauf hin, daß die chronisch infizierten Tiere so als Parasitenträger, als Hauptquelle der Infektion von Pferden und anderen sehr empfänglichen Tieren wirken können.

Sehr wenig beachtet ist ein Befund Lingard's (l. c. 100) bei Ratten *(Mus decumanus)*. Es konnte durch Blutüberimpfung scheinbar gesunder Ratten auf 12 Pferde bei 4 eine akute Surra ausgelöst werden. Die Versuchsanordnung ließ es als recht unwahrscheinlich erscheinen, daß eine anderweitige Infektion dabei vorlag. Im Blut von Ratten glaubt Lingard auch *Trypanosoma evansi* neben *Trypanosoma lewisi* gesehen zu haben. Baldrey (2) fand, daß auch Schweine wenig empfänglich sind und nach künstlicher Infektion noch lange gesunde Parasitenträger bleiben können.

Morphologie.

Das *Trypanosoma evansi* ähnelt sehr dem *Trypanosoma brucei*, es mißt im Mittel 25 μ zu 1,5 μ. Gegenüber dem *Trypanosoma brucei* zeichnet es sich aber durch eine meist weniger ausgebildete undulierende Membran und eine oft sehr lange freie Geißel aus, wodurch auch die Art der Bewegung beeinflußt wird, die sich oft mehr der Crithidienbewegung nähert. Geschlechtsunterschiede sind meist wenig deutlich ausgeprägt.

Das Verhalten des *Trypanosoma evansi* in vitro bietet gegenüber den bei *Trypanosoma brucei* geschilderten Vorgängen keine Besonderheiten.

Die Kultur gelang Laveran und Mesnil (l. c. 86, S. 241) mit einem Surrastamm von Mauritius nur ein einziges Mal, es kam zu Rosettenbildung, bei denen die Geißeln stets nach Innen gerichtet waren. Die Rosetten wurden nie sehr groß. Die

[1]) Laveran hat auf Grund von „Kreuzinokulationen" die Erreger der Pferdetrypanosomiasis von Annam als *Trypanosoma annamense* neuerdings abgetrennt.

Subkultur gelang gleichfalls nur einmal; noch nach 3 Monaten waren Rosetten darin. Die Infektion von Mäusen mit Kultur gelang stets.

Novy, Mac Neal und Hare erhielten von einer surrakranken Kuh aus den Philippinen Kulturen auf ihrem Nährmedium. Die auf den Philippinen angelegte Kultur wurde 3 Tage im Eisschrank gehalten und dann nach Amerika versandt, wo bei der Ankunft nach 38 Tagen in allen 3 Röhrchen Wachstum von Flagellaten eingetreten war. Die Kulturen unterschieden sich wesentlich von denen von *Trypanosoma brucei* und *lewisi*. Es kam zu keiner Rosettenbildung, die Flagellaten hatten eine große (bis 28 μ) freie Geißel, keine undulierende Membran, einen spindelförmigen Körper, oft meist stilettartig ausgezogen. In den Flagellaten waren besonders in der vorderen Hälfte stets zahlreiche 0,3—0,5 μ große Granula. Auch birn- und kugelförmige Degenerationsformen kamen vor, oft in großen Massen zusammen. Überimpfungen und Subkultur mißlangen.

Alles spricht dafür, wie schon Gaiger (l. c.) vermutet, daß es sich hier nicht um gelungene Kulturen von *Trypanosoma evansi*, sondern um das ubiquitäre, nicht virulente große Rindertrypanosom gehandelt hat, das ja auch auf den Philippinen schon seit langem durch Kultur nachgewiesen ist.

Übertragung auf andere Tiere.

Die natürlich empfänglichen Tiere sind es auch für die künstliche Infektion durch Blutüberimpfung. Auch die kleinen Laboratoriumstiere sind empfänglich. Für Ratten und Mäuse kann durch Passagen die Virulenz bis zu akutem Verlauf in wenigen Tagen erhöht werden, andere Passagestämme können sich aber für Mäuse sogar als avirulent erweisen. Meerschweinchen sterben nach Laveran und Mesnil in 39—104 Tagen, Kaninchen in 3—4 Wochen, bei beiden sind die Trypanosomen meist sehr spärlich im Blut.

Bei Laboratoriumsversuchen konnten wir mehrmals Spontaninfektion benachbarter Tiere beobachten (Ratten und Hunde) und einmal Infektion einer Katze durch Fressen einer Surraratte; daß in einem Teil der Fälle die Infektion durch Insekten stattgefunden hatte, erschien sehr wahrscheinlich und spräche für die leichte Übertragbarkeit von *Trypanosoma evansi* auf — vielleicht — mechanische Weise.

Natürliche Übertragung.

Über die Übertragung in der Natur herrscht fast nach allen Beobachtungen die übereinstimmende Ansicht, daß sie durch Stechfliegen auf rein mechanischem Wege erfolgt. Überall wo Surraepidemien auftreten, lassen sich stets zahlreiche Stechfliegen finden.

Bei der von Evans studierten Epidemie beschuldigten die Eingeborenen Tabaniden, die auch wahrscheinlich die Hauptrolle dabei spielen. Übertragung durch deren Stich auf rein mechanischem Wege ist zuerst Rogers (147) gelungen.

Neuerdings berichteten Fraser und Symonds (54) über solche positiv ausgefallene Versuche mit 4 Species von *Tabanus*, während Versuche mit *Stomoxys* stets negativ ausfielen.

Schat (157), der sich seit Jahren auf Java mit Surra beschäftigt, beschreibt, daß er in Stomoxys 15 Minuten nach dem Saugen von infektiösem Blut einfache und „multiple“ Conjugationsformen angetroffen habe, dann Zerfall der Parasiten „in 6—7 Protoplasmahäufchen, die man für Sporen ansehen kann“. Er hält es für einen sexuellen Cyklus und sah übrigens auch im Warmblüter außer einer Vermehrung durch longitudinale Teilung eine solche durch „Sporenbildung“.

Da es fast sicher ist, daß bei *Trypanosoma evansi* die Übertragung rein mechanisch durch Stechfliegen erfolgt, die sich an den zahlreichen „Parasitenträgern“ der infizierten Gebiete (s. oben) sehr leicht mit infektiösem Material vollsaugen können, so können wir vielleicht das *Trypanosoma evansi* als ein Trypanosom ansehen, das sich — bei Fehlen eines zu sexueller Entwicklung geeigneten Zwischenwirtes — dieser rein mechanischen Übertragungsweise angepaßt hat. Die oben genannten Laboratoriumsbeobachtungen sprechen auch für das „leichte Haften“ dieses Virus. Es lägen hier ähnliche Verhältnisse vor, wie bei dem im nächsten Abschnitt besprochenen *Trypanosoma equiperdum.*

Trypanosoma equiperdum (Doflein).
(Erreger der Dourine.)

Ende des 18. und anfangs des 19. Jahrhunderts herrschte in Deutschland eine unter dem Namen Beschälseuche oder Zuchtlähme bekannte infektiöse Geschlechtskrankheit unter Zuchtpferden. Bald kamen auch Berichte aus anderen europäischen Staaten, wie Österreich, Ungarn, Kroatien, Spanien, Rußland und der Türkei. Nach Erkenntnis der Klinik und der zweifellosen Übertragungsweise trat die Erkrankung dann in Europa mehr zurück, wo sie zurzeit noch in Spanien, den Donauländern, einzelnen Teilen Rußlands und in Südfrankreich, wenn auch teils sporadisch, beobachtet wurde. Sie führt außer obigen deutschen Namen die Bezeichnung Mal de Coit und Dourine. Von Rußland aus wurde die Seuche auch 1908 wieder in Ostpreußen eingeschleppt. Von anderen Ländern herrscht sie besonders heftig in Nordafrika, in Algier; dann ist sie Ende des 19. Jahrhunderts auch in Amerika erschienen, wo einige Staaten Nordamerikas (besonders South Dakota), dann Canada und auch Chile infiziert wurden. In Asien ist sie in Persien, Kleinasien und Java bekannt, in Vorderindien wurde ihr Vorkommen 1901 durch Lingard erkannt. Vermutlich sind die Orte der jetzigen Verbreitung noch viel zahlreicher und nur lückenhaft bekannt (findet man doch Indien als Ort des Vorkommens trotz Lingard's eingehender Studien fast in keinem Lehrbuch).

In Nordafrika hatte man die Seuche eine Zeitlang für eine — durch widernatürlichen Geschlechtsverkehr auf Tiere übertragene Syphilis gehalten. 1894 entdeckte Rouget (153) als Erreger ein Trypanosoma, dessen ätiologische Bedeutung inzwischen überall, wo die Krankheit daraufhin untersucht wurde, festgestellt werden konnte.

Klinik.

Die klinischen Befunde bei Dourine zeichnen sich durch einige Charakteristika aus, die sie bei ausgeprägtem Krankheitsbild von den anderen Trypanosomiasen leicht unterscheiden lassen.

Diese Charakteristika sind:

1. Veränderungen der Geschlechtsorgane und der benachbarten Gewebe.
2. Hautveränderungen, wahrscheinlich vasomotorischen Ursprungs.
3. Veränderungen des Zentralnervensystems.

Besonders gute klinische Schilderungen verdanken wir Schneider und Buffard (162) sowie Lingard (101), bei welch letzterem der Autor selbst 1906 Fälle in den verschiedensten Stadien klinisch und mikroskopisch zu untersuchen Gelegenheit hatte.

Neuerdings haben auch Zwick und Fischer (200) sehr sorgfältige Untersuchungen über die ostpreußichen Fälle veröffentlicht.

Der Verlauf der Dourine ist gewöhnlich ein chronischer und zwar scheint sie bei Hengsten bedeutend länger (jahrelang) dauern zu können, ohne wesentlich fortzuschreiten; spontane Remissionen für lange Zeit sind gleichfalls beobachtet.

Die Inkubation schwankt beträchtlich — als solche vom klinischen, nicht vom parasitologischen Standpunkt aus betrachtet. Durch Infektion zahlreicher Pferde auf natürlichem Wege verdanken wir darüber LINGARD genauere Beobachtungen. Die ersten Erscheinungen traten dabei zwischen dem 10. und 50. Tage auf. Bei Stuten sind die ersten Symptome gewöhnlich Entzündung der Schleimhaut der Vagina, Bildung einer Bläscheneruption daselbst, später Ulcerationen. Daneben kommt es zu Schwellungen der Schamlippen, die ein- oder zweiseitig sein können. Später tritt starke Schleimsekretion auf und an Stelle der Bläschen und Ulcera entstehen unpigmentierte weiß erscheinende Flecke. Beim Hengst sind die primären Erscheinungen oft sehr gering ausgeprägt, sie bestehen in Infiltration des Penis, eventuell kleinen Ulcerationen an der Schleimhautoberfläche. Später kommt es zu Paraphimose durch die Schwellungen, diese können beträchtlich werden und auf die Umgebung übergehen und es kommt auch hier zu unpigmentierten Stellen.

Es besteht im Frühstadium Harndrang und gesteigerter Geschlechtstrieb bei beiden Geschlechtern, der natürlich die Verbreitung begünstigt.

Meist bilden sich dann diese lokalen Erscheinungen zurück, während die Allgemeinaffektion mit Fieberattacken fortschreitet, wobei auch Abmagerung eintritt.

Im zweiten Stadium kommt es nach ca. einem Monat (in LINGARD's Versuchen nach 24—34 Tagen, nach SCHNEIDER und BUFFARD nach 40—45) zur Entstehung von Quaddeln (Plaques), sog. Talerflecken. Ihr Lieblingssitz sind Nacken, Seite der Brust, Bauch, Gruppe und Schultern, gelegentlich auch Extremitäten. Die Quaddeln variieren nach Größe, Form, Zahl, Art ihres Auftretens und Verschwindens ungeheuer. Die meisten sind von regelmäßiger runder oder ovaler Gestalt, entweder flach erhaben (Talerflecke) oder wallartige Wülste, die ein flaches Centrum umschließen. Sie sind meist von Ödem durchtränkt, die Haut darüber ist manchmal verändert, die Haare gesträubt, oft aber sind sie nur als circumscripte erhabene Hautstellen erkennbar. Die Quaddeln können allmählich oder ganz plötzlich entstehen und ebenso rasch verschwinden oder langsam abklingen. Es kommt in diesen Stadien zu abwechselnden Remissionen und Paroxysmen, die mit dem Auftreten und Schwinden von Plaques einhergehen; oft können die Remissionen sehr lange (bei LINGARD einmal 138 Tage beobachtet) dauern.

Nicht in allen Fällen kommt es zur Ausbildung von Plaques, LINGARD sah solche ohne Hautaffektion rascher verlaufen.

Außer diesen Quaddeln kommt auch häufig eine disseminierende Urticaria oder Bläscheneruption vor.

Im dritten Stadium der Erkrankung dominieren die Lähmungen, die in LINGARD's Fällen zwischen dem 71. und 173. Tag auftraten. Bei, vom ersten Stadium an, — eventuell unter Remissionen — fortschreitender Abmagerung und Anämie kommt es dabei zu einer fortschreitenden Lähmung der Hinterhand, die schließlich das Stehen unmöglich macht. Außerdem kommen aber lokale Sensibilitäts- und Motilitätsstörungen vor, letztere besonders im Facialisgebiet.

Die Krankheitsdauer schwankt zwischen wenigen Monaten und mehreren (bis 4) Jahren, besonders bei Hengsten verläuft die Krankheit langsamer. Spontane Heilungen bei letzteren scheinen auch vorzukommen.

Morphologie und Biologie des Erregers.

Das *Trypanosoma equiperdum* findet sich besonders in den Anfangsstadien häufig in den veränderten Stellen der Genitalien und dem Sekret derselben; so fand Lingard in einem einzigen Deckglasausstrich von Vaginalsekret 5—6000 Trypanosomen; auch durch künstliche Infektion mit solchem Sekret konnte er Infektionen erreichen. Ferner findet man das Trypanosom besonders leicht in Plaques und zwar am besten in frisch entstandenen. Ich konnte mich selbst vom massenhaften Befund in dem aus dem Rande der Plaques gewonnenen Ödem- und Blutsaft überzeugen. In älteren Plaques findet man dann zahlreiche Degenerationsstadien des Trypanosoms, die Lingard (102) zum Teil als Entwicklungsstadien aufgefaßt hat, die große Ähnlichkeit mit den „latent bodies" haben, die Salvin-Moore und Breinl später bei verschiedenen Trypanosomen beschrieben haben.

Im Blut findet man es oft massenhaft während der Fieberanfälle, oft aber auch überhaupt nicht, selbst nicht bei Überimpfungen auf empfängliche Tiere.

Das *Trypanosoma equiperdum* ist 25—28 μ lang und ähnelt sehr dem *Trypanosoma evansi* und *brucei;* meist ist es ziemlich schmal gebaut. Granula enthält es oft nicht, in anderen Fällen meist feinkörnigere als das *Trypanosoma brucei.* Im Vaginalschleim und Quaddelsaft findet man — wie erwähnt — sehr zahlreich rundliche geißellose Formen oder Reste von Trypanosomen in Form von Geißeln mit Blepharoplast usw.

Salvin-Moore und Breinl (155) glauben eine besondere Entwicklung bei Ratten festgestellt zu haben, bei der es zu rundlichen Formen (ähnlich ihren „latent bodies") kommt.

Übertragung auf andere Tiere.

Die Übertragung auf Pferde und Esel gelingt durch subkutane Einverleibung, wie auch durch Infektion der oberflächlich leicht verletzten, eventuell auch der unverletzten Schleimhäute und zwar nicht nur der Genitalien. So gelang es Zwick und Fischer durch Einträufeln infizierten Blutes in die Lidsäcke eines Pferdes Infektion zu erhalten.

Von anderen Versuchstieren ist vor allem das Kaninchen empfänglich, bei dem es schon Rouget gelang, durch Konjunktivalinjektion Infektion zu erzeugen; durch den Koitus mit einem infizierten Karnickelbock erhielten Buffard und Schneider Infektion; die Infektion durch subkutane Impfung gelingt stets leicht. Die Erkrankung der Kaninchen, gleichgültig auf welche Weise die Infektion erfolgt ist, ähnelt sehr der des Pferdes; der Tod erfolgt je nach der Virulenz in ca. 3 Wochen bis 2—3 eventuell 4 Monaten. Es kommt zu Ödemen, besonders an den Ohren und den Genitalien, zu eitriger Konjunktivitis, Haut-Exkoriationen und -Ulzerationen, eventuell zu Nekrosen an den Genitalien. Trypanosomen finden sich im Blut stets spärlich, nach dem Tode besonders zahlreich (wie bei den meisten Trypanosomiasen der Kaninchen) im Knochenmark.

Auch bei Hunden kann es zu ähnlichen Allgemeinerscheinungen kommen, sie sterben in 1—3 Monaten. Bei Katzen sahen Zwick und Fischer Exsudate in der vorderen Augenkammer und Keratitis, Tod nach 43 Tagen bzw. 6 Monaten.

Auch beim Schaf traten in Zwick und Fischer's Versuchen — die sehr hübsche Abbildungen ihrer Versuchstiere geben — Hautveränderungen mit fleckigem Haarausfall auf, die Tiere besserten sich aber nach 5 Monaten wieder.

Ziegen und Rind erwiesen sich als wenig empfänglich; ca. 1 Woche nach der Impfung trat Fieber auf, Trypanosomen waren eine Zeitlang durch Tierimpfung nachweisbar. Auch bei Affen finden sich nur vorübergehend Trypanosomen.

Bezüglich des Verlaufes bei Ratten und Mäusen bestanden anfangs Widersprüche in den Befunden, da einzelne Stämme sich als nicht oder wenig infektiös erwiesen. Es ist jetzt sicher, daß es sich nur um Virulenzschwankungen gehandelt hat und daß Ratten und Mäuse für *Trypanosoma equiperdum* jeder Herkunft empfänglich sind. Längere Zeit auf diesen Tieren gezüchtete Stämme töten Mäuse in 4—7, Ratten in 8—14 Tagen; kleine Schwankungen bestehen nach den Stämmen. Auch die Impfung durch die unverletzte Haut ist bei *Trypanosoma equiperdum* gelungen.

Yakimoff und Kohl (197) versuchten Hühner zu infizieren und konnten einmal nach 10 bzw. 46 Tagen durch Mäuseimpfung Trypanosomen nachweisen.

Die natürliche Übertragung.

Der gewöhnliche Infektionsmodus der Dourine ist zweifellos der durch den Geschlechtsakt, das beweisen die natürlichen Beobachtungen und die absichtlich auf diesem Wege vorgenommenen Infektionen. Da die Erreger ja im Sekret der affizierten Genitalwege nachgewiesen sind, erscheint dies als ganz natürlich. Eine Vererbung auf die Nachkommen ist trotz der Infektion der Geschlechtsorgane bisher nie beobachtet worden (Zwick und Fischer fanden in 4 Föten einer mit Dourine infizierten Ratte vereinzelte Trypanosomen). Daß auch durch den Säugakt eventuell einmal eine Übertragung stattfinden kann, erscheint schon deshalb nicht ausgeschlossen, weil auch die Euter der Stuten krankhaft verändert sind. Schneider und Buffard fanden die Erreger in der Milch und Zwick konnte mit Milch von einer kranken Stute Mäuse infizieren. Fälle natürlicher Übertragung auf diesem Wege sind aber nicht bekannt geworden.

Natürlich hat man auch an die Möglichkeit einer Übertragung durch Stechfliegen gedacht, die wie bei jeder Trypanosomiasis auf mechanischem Wege erfolgen könnte. Eine Beobachtung in unserem Institute [Sieber und Gonder (166)], bei der in einem viele *Stomoxys* beherbergenden Stalle auf ein gesundes Pferd Dourine von einem benachbarten Pferd übertragen wurde, sprach sehr dafür. Schuberg und Kuhn (164) konnten dann auch die Möglichkeit dieses Modus experimentell beweisen.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen

bei den befallenen Pferden entsprechen ganz den klinischen Befunden. Von der Infektionsstelle aus werden die Inguinaldrüsen befallen, von wo die Infektion — nach Mott (127) — wahrscheinlich durch die Beckenlymphwege auf den Plexus lumbosacralis und die hinteren lumbosakralen Wurzeln des Zentralnervensystems übergeht. Infolge davon werden diese Teile des Rückenmarks und besonders die Hinterstränge befallen. Mott fand bei einem genau untersuchten Fall Chromatolyse in den Zellen der grauen Substanz; dagegen fehlte dort die für Schlafkrankheit so charakteristische lymphocytäre Infiltration. Die Spinalganglien zeigen chronische Entzündung und Degeneration einer Anzahl von Ganglienzellen. Die Eruptionen der Hautplaques bringt Mott mit der entzündlichen Reizung der Ganglien in Zusammenhang, wie ein Vergleich mit Herpes zoster nahelegt; andrerseits macht die Reizung der hinteren Wurzeln ja auch Vasodilatation. Neuritische Veränderungen der peripheren Nerven sind vor allem durch Marek festgestellt worden, der auf Grund seiner Befunde den Namen Polyneuritis infectiosa equorum vorschlug.

Immunität.

Nocard fand, daß Tiere, die der Krankheit nicht erliegen, eine aktive Immunität erwerben; er fand dies besonders bei Hunden. Eine lokale aktive Immunität beobachteten in gewissem Sinne Buffard und Schneider, die bei Tieren im vorgeschrittenen Stadium bei Reinokulation keine neuen lokalen Erscheinungen auftreten sahen.

Lingard ließ australische Stuten, die die Krankheit überstanden hatten und offenbar nach ca. 2 Jahren geheilt waren, vom infizierten Hengst (eine 3 mal) decken, ohne daß sie wieder erkrankt wären; mit Surra infiziert, erlagen sie, was die Spezifität der Affektion bewies.

Lingard machte auch eine Beobachtung über angeborene Immunität: Eine im 8. Monat trächtige Eselin wurde mit Dourine infiziert und erkrankte daran; ein 3 Monate später geborenes Fohlen erwies sich, als es 8½ Monate alt war, gegen 2 malige Infektion mit Dourineblut refraktär.

Serum von Kaninchen, die im letzten Stadium der Erkrankung waren, wies in Versuchen Rougets' Immunsubstanzen dar: Mit Trypanosomen gleichzeitig injiziertes Serum verhinderte in einigen Fällen den Tod, in anderen verzögerte er ihn nur um einige Wochen. Eine ähnliche geringe Schutzwirkung konnten Zwick und Fischer mit Pferde- und Schafserum feststellen, die sie spezifisch (nicht wirksam gegen *Trypanosoma brucei*) fanden.

Versuche durch Komplementbindung bei Dourine spezifische Substanzen festzustellen, führten zu keinem brauchbaren Resultate.

Die süd- und mittelamerikanischen Equidenseuchen.

In diesen Ländern sind außer einer seit Jahren bekannten Equidenseuche, dem Mal de Caderas, neuerdings noch solche im Panamagebiet und in Venezuela entdeckt worden. Wenn auch bisher angenommen wird, daß sie verschieden voneinander sind, so glaube ich umsomehr, daß man sie aus praktischen Gründen unter obiger Gruppe zusammenfassen kann, als pathogene Trypanosomiasen bei anderen Haustieren der amerikanischen Länder (außer Dourine bei Equiden) bisher unbekannt sind.

Ich halte es nicht für ausgeschlossen, daß bei eingehenden Untersuchungen sich eine nahe Verwandtschaft der beobachteten Formen herausstellt.

Trypanosoma equinum (Voges).

(Erreger des Mal de Caderas.)

In den 50er Jahren des vorigen Jahrhunderts trat unter den Equiden Brasiliens eine Erkrankung auf, wegen ihrer Symptome Mal de Caderas genannt. Bald verbreitete sich die Seuche auch auf andere südamerikanische Staaten. Nach Darling kommt sie jetzt vor in Gegenden längs der Nebenflüsse des Rio de la Plata in Argentinien, Uruguay, Paraguay, Brasilien und Bolivien und ebenso im föderierten Distrikt von Matto Grosso, zwischen Madeira und Xingu (Nebenflüssen des Amazonas) und auf der Insel Marajo in der Amazonasmündung.

1901 entdeckte Elmassian ein Trypanosoma bei der Seuche, dem Voges den Namen *Trypanosoma equinum* gab.

Klinik.

Die Krankheit befällt Pferde und Esel.

Sivori und Lecler (168 und 169), die sorgfältige klinische Beobachtungen anstellten, unterscheiden 2 Typen der Krankheit.

Der eine Typus ist gekennzeichnet durch progressive Anämie verbunden mit rapider Abmagerung und führt in 3 Wochen bis 3 Monaten zum Tode. Beim zweiten Typus treten krankhafte Erscheinungen von seiten des Rückenmarks in den Vordergrund; es kommt zu Koordinationsstörungen der hinteren Extremitäten, Paresen mit eventuellem Fortschreiten auf die vorderen Extremitäten. Dabei tritt von Zeit zu Zeit Fieber auf. Die Lähmung der hinteren Extremitäten ist für die zweite Form charakteristisch. Die Hufe erscheinen beim Gehen umgeknickt, die ganze Hinterhand zittert beim Gehen und schließlich ist das Gehen ganz unmöglich. Auch hier besteht Fieber von remittierendem Charakter.

Von anderen Erscheinungen kommen nach anderen Beobachtern Augenentzündungen öfters vor, ferner Albuminurie und Hämoglobinurie. Ödeme wie bei den anderen Trypanosomiasen sind sehr selten.

Diese Form kann akut in 1 bis mehreren Wochen tödlich enden oder chronisch $^1/_2$—1 Jahr verlaufen, in welchem Falle die Lähmungserscheinungen erst im letzten Stadium der Erkrankung aufzutreten pflegen.

Pathologische Anatomie.

Man findet Transsudate in den serösen Höhlen, capillare Blutungen im Endocard; im Rückenmark exsudative Entzündungsprozesse längs der Gefäße. Milz, Leber, Lymphdrüsen sind geschwollen. An den Nieren finden sich nephritische Veränderungen in Form diffuser hämorrhagischer interstitieller und parenchymatöser Prozesse.

Morphologie.

Das *Trypanosoma equinum* findet sich bei den befallenen Tieren im Blute, manchmal nur sehr spärlich. Es mißt 20—25 zu 2—4 μ. Als charakteristisch für das sonst von *Trypanosoma brucei* und *evansi* kaum zu unterscheidende Trypanosom wird die Kleinheit des Blepharoplasten angegeben, so daß man anfangs sogar an ein Fehlen desselben glaubte. Derselbe ist tatsächlich meist nur ein kleines, rundliches Korn im Gegensatz zu dem oft stäbchenförmigen der anderen Trypanosomen. (Fig. 17—20, Taf. VI.)

Ich möchte aber betonen, daß man aus der Kleinheit dieses Elements nicht stets mit Sicherheit die Differentialdiagnose stellen kann. Bei intensiver Färbung sieht man häufig Exemplare mit größeren Blepharoplasten; auch konnte ich vor einiger Zeit einen direkt aus Brasilien (wo verwandte Arten bisher unbekannt sind) kommenden Mal de Caderas-Stamm untersuchen, bei dem der Blepharoplast durchweg deutlicher ist, als bei einem anderen länger bei uns gezüchteten Stamme. Wegen des Befundes verwandter Trypanosomiasen in Mittelamerika möchte ich diese Beobachtung besonders betonen.

Auf die Beobachtung „blepharoplastloser“ Trypanosomen soll an anderer Stelle eingegangen werden.

Biologisch verhält sich *Trypanosoma equinum* nicht wesentlich anders als die übrigen pathogenen Trypanosomen. Näheres findet sich im ersten Abschnitt.

Übertragung auf andere Tiere.

Die Übertragung von *Trypanosoma equinum* auf die gebräuchlichen Laboratoriumstiere gelingt sehr leicht. Mäuse und Ratten erliegen ungefähr so rasch wie bei *Trypanosoma brucei* in 5—8—10 Tagen, Kaninchen nach 1 bis mehreren Monaten; Meerschweinchen (nach LAVERAN und MESNIL) oft nach 4 Monaten, Hunde nach 2—3 Monaten. Auch Katzen und Affen sind leicht infizierbar. Bei Rindern, Ziegen, Schafen kommt es nur zu einer leichten vorübergehenden Erkrankung. Sie überstehen die Krankheit meist.

Immunität.

Tiere, die die Krankheit überstehen, wie Ziegen, Schafe, Rinder werden aktiv immun dagegen und widerstehen weiteren Infektionen. Das Serum dieser Tiere enthält, wenn auch meist nur geringe, Schutzstoffe. So fanden LAVERAN und MESNIL, daß das Serum einer immunisierten Ziege 3 Monate nach der Infektion in der Dosis von 1 ccm vor gleichzeitiger Infektion mit *Trypanosoma equinum* schützte; nach der Heilung hatte das Serum die Eigenschaft wieder verloren. Auch mit Schafserum sahen sie Ähnliches.

Übertragung.

Als Überträger werden seit langem Stechfliegen, insbesondere *Stomoxys calcitrans* und *Tabanus*-Arten verdächtigt; andererseits war das Vorkommen der Seuche in der Nähe von Flüssen schon lange aufgefallen. ELMASSIAN und MIGONE (50) machten zuerst darauf aufmerksam, daß an diesen Flüssen sehr viele Wasserschweine *(Hydrochoerus capibara)*, sog. Carpinchós vorkommen, die vielleicht als Parasitenträger wirken könnten. Sie beobachteten, daß Jagdhunde nach Genuß des Fleisches von Carpinchos krank wurden und daß dann die Seuche alsbald unter den Pferden ausbrach. Neuerdings hat MIGONE in Paraguay (120) neben Mal de Caderas eine Seuche unter den Carpinchos beobachtet; die Tiere zeigten Lähmungen der hinteren Extremitäten. Es wurden Trypanosomen bei ihnen gefunden, die bei Affen eine ähnliche Erkrankung hervorriefen, die am 17. Tage tödlich endete. Wie die Seuche von den Carpinchos auf die Pferde gelangt, konnte er noch nicht aufklären.

Trypanosoma hippicum (DARLING).
(Erreger der „Murrina“ in Panama.)

DARLING (40 und 41) fand in der Panamakanalzone eine Equidenseuche unter Pferden und Maultieren, die von den Eingeborenen Murrina oder Derrengadera genannt wird. Die erstere soll chronisch, die zweite akut verlaufen und sie werden von den Eingeborenen für verschiedene Seuchen gehalten.

Die Krankheit verläuft bei Maultieren (die allerdings sehr stark arbeiteten) und Pferden ungefähr gleich rasch. Dauer von 28—130 Tagen wurde bei Maultieren beobachtet, bei Pferden 54 und 73 (219?).

Die Symptome entsprechen zum Teil den bei Mal de Caderas beobachteten und bestanden in: Anämie, Schwäche, Abmagerung und Ödemen, konjunktivalen Ecchymosen, Konjunktivitis und Fieber und geringgradigen Paresen der Hinterhand.

Pathologisch-anatomisch charakteristisch waren besonders: Ecchymosen der Milzkapsel, akute hämorrhagische Nephritis mit akuter Glomerulitis und Petechien;

epicardiale und endocardiale Ecchymosen seltener auch pleurale, peritoneale und konjunktivale, wie Pleuraergüsse.

Als Erreger fand Darling ein Trypanosom, das er als *Trypanosoma hippicum* bezeichnet und das er und Laveran (77) genauer untersuchten.

Morphologie.

Trypanosoma hippicum mißt 18—28 μ, im Mittel meist 24 μ bei 1,5—3 μ Breite. Der Blepharoplast ist stets sehr deutlich färbbar. Das Protoplasma zeigt oft zahlreiche Granula. Die Geißel wird am Vorderende frei und mißt als solche 4—6 μ. (Fig. 14—16, Taf. VI.)

Übertragung auf andere Tiere.

Trypanosoma hippicum erwies sich für zahlreiche Tiere in den Versuchen Darling's und Laveran's als infektiös.

Hunde: Tod nach 33—38 Tagen (Abmagerung, Hornhauttrübuug, Lähmung der Hinterextremitäten.)

Meerschweinchen: Tod nach 27—336 Tagen.

Weiße Mäuse und Ratten: 8—20 Tage.

Affen: 32 bzw. 43 Tage.

Kaninchen: 55—163 Tage. (Haarausfall, Blepharokonjunktivitis, Rhinitis.)

Ein Schwein erkrankte leicht und heilte aus, ein Kalb erwies sich als refraktär. Opossum, Raccoon, Coati starben nach einigen Wochen.

Identifizierung.

Darling und Laveran glauben, daß *Trypanosoma hippicum* nichts mit *Trypanosoma equinum* gemein habe und die Krankheit also nicht Mal de Caderas sein könne. Darling schließt dies aus dem klinischen Unterschiede (z. B. Ödeme). Es ist aber bekannt, daß Mal de Caderas auch ohne die charakteristischen Lähmungssymptome verlaufen kann und die Krankheitsbilder sind durchaus nicht so verschieden, daß man sie bestimmt für zwei differente erklären könnte.

Der Hauptgrund für die Abtrennung ist bei beiden Autoren die leichte Färbbarkeit des Blepharoplasten, die selbst Laveran, der sonst Identifizierung auf rein morphologischer Betrachtung ablehnt, genügte, um *Trypanosoma hippicum* als different von *Trypanosoma equinum* zu erklären. Ich habe oben schon angeführt, daß ich zweifellos echtes *Trypanosoma equinum* kenne, bei dem der Blepharoplast stets deutlich färbbar ist und möchte aus diesem Grunde auf dieses Differenzierungsmerkmal um so weniger Gewicht legen, als sich ja jüngst gezeigt hat, daß sogar durch bestimmte Medikamente Trypanosomen so beeinflußt werden können, daß ihr Blepharoplast schwindet.

Leider hat Laveran die von ihm mit Recht sonst stets angewandte Immunitätsreaktion bei *Trypanosoma hippicum* nur gegenüber *Trypanosoma pecaudi, evansi* und *gambiense* und nicht gegenüber *Trypanosoma equinum* herangezogen; ein Versuch, der zweifellos nachgeholt werden müßte.

Wahrscheinlich ist aber, wie Laveran offen läßt, *Trypanosoma hippicum* identisch mit einem anderen Trypanosoma, nämlich:

Trypanosoma venezuelense.

Mesnil (115) teilte mit, daß Rangel 1905 eine Trypanosomiasis der Equiden aus Venezuela beschrieben hat, die unter zwei Formen verläuft:

1. perniciöse progressive Anämie mit Ödemen (= peste boba),
2. paretische oder paraplegische Form (= desrengadera).

Rangel stellte die Krankheit, trotzdem ihm die Deutlichkeit der Blepharoplasten auffiel, dem Mal de Caderas nahe. Das Trypanosom mißt nach Mesnil 18—23—30 μ zu 1,7 μ; er schlug den Namen *Trypanosoma venezuelense* dafür vor.

Da der Name der von Darling beobachteten Krankheit Derrengadera, die nach ihm auch in Columbien vorkommt, mit dem Namen der venezuelensischen Seuche identisch ist, erscheint es sehr wahrscheinlich, daß es sich um dieselbe Form handelt, wonach einer der beiden Namen fallen müßte (wenn nicht beide Varietäten von *Trypanosoma equinum* sind).

Trypanosoma theileri (Bruce u. Laveran) und Verwandte Trypanosomen.

1902 entdeckte Theiler (185) in Transvaal bei einer dort seit langem unter dem Namen Gall sickness bekannten Seuche der Rinder ein Trypanosoma, das er lange für deren Erreger hielt. Seine ätiologische Bedeutung für diese Erkrankung haben Nocht u. M. Mayer bereits 1906 bezweifelt und inzwischen ist es als sicher erkannt worden, daß das Trypanosoma nichts mit dieser Erkrankung zu tun hat, deren klinische Besonderheiten deshalb außer acht gelassen werden können.

Morphologie.

Das *Trypanosoma theileri* ist gegenüber den pathogenen Säugetiertrypanosomen charakterisiert durch seine Größe. Schon durch diese allein ist es fast ohne weiteres zu erkennen. Dabei zeichnen sich die einzelnen Individuen selbst durch beträchtliche Größenschwankungen aus. Die Länge beträgt nach Theiler 30—70 μ, die Breite 2—5 μ. Der Kern ist meist längsoval und liegt ungefähr in der Mitte. Der Blepharoplast erscheint oft als dickes quergestelltes Stäbchen und ist meist ziemlich weit von dem Hinterende entfernt. Das Hinterende des *Trypanosoma theileri* ist meist sehr lang und spitz ausgezogen.

Die undulierende Membran ist sehr gut entwickelt und endet in einer auffallend langen (bis 20 μ) freien Geißel. Der guten Ausbildung des Bewegungsapparates entspricht die lebhafte Beweglichkeit des Parasiten.

Theiler gelang die Überimpfung auf andere Rinder, während Übertragungen auf andere Tierarten zu keinem Erfolge führten.

Laveran (78, 79), dem Theiler Trypanosomenausstriche einsandte, fand darin einige Exemplare, bei denen der Blepharoplast nicht hinter, sondern dicht neben dem Kern lag und glaubte diese Form von dem *Trypanosoma theileri* abtrennen zu müssen als *Trypanosoma transvaaliense*. Theiler vermutete aber schon, daß es sich nur um eine Varietät von *Trypanosoma theileri* handle. Auch Lingard faßt sie als Stadien dieses auf. Es dürfte wohl jetzt sicher sein, daß es ein Entwicklungsstadium dieses ist, da wir ja echte Crithidien-ähnliche Formen von den Zwischenwirten kennen. (Neuerdings sind ähnliche Formen bei menschlicher Trypanosomiasis [*Trypanosoma rhodesiense*] gefunden worden.)

Die Lebensfähigkeit der Trypanosomen in vitro variierte nicht wesentlich von der anderer Trypanosomen.

Bei Immunisierungsversuchen durch Behandlung von Tieren mit mehreren Injektionen fand Theiler, daß das Serum dieser die Eigenschaft erhielt in vivo und in vitro Agglomeration der Trypanosomen herbeizuführen.

Mit Hippobosca rufipes, die er der Übertragung verdächtigte, konnte Theiler auf mechanische Weise zweimal Infektion erhalten.

Trypanosoma theileri ist inzwischen von zahlreichen anderen Beobachtern bei anscheinend gesunden Rindern in verschiedenen Gegenden Afrikas nachgewiesen worden.

Bald mehrten sich die Fälle, in denen auch in anderen Weltgegenden Trypanosomen vom Typus des *Trypanosoma theileri* bei Rindern gefunden wurden.

So fanden 1903 und 1904 Durant, Holmes und Lingard (98) solche Trypanosomen in Vorderindien, die letzterer *Trypanosoma himalayanum* und *indicum* benannte. Man fand sie meist bei Rindern als Nebenbefund von Rinderpest, Milzbrand und Surra. Morphologisch gleichen diese Trypanosomen, die Verfasser selbst untersuchen konnte (112), jenen des *Trypanosoma theileri*; ihre Größe schwankt zwischen 36 und 70 μ (Fig. 9 *a*).

Lingard (l. c.) fand auch einmal Trypanosomen, bei denen die einzelnen Formen sich durch beträchtliche Größendifferenzen und die Lagerung des Blepharoplasts — ähnlich wie bei *Trypanosoma transvaaliense* — unterschieden. Er benannte die Form *Trypanosoma muktesari* (s. Figur 9, *b—d*).

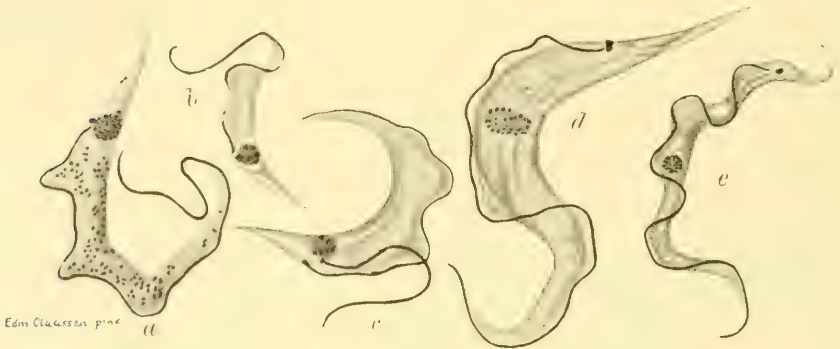


Fig. 9. Verschiedene Rindertrypanosomen aus Indien. *a Trypanosoma himalayanum*. *b—d Trypanosoma muktesari*. Nach Lingard. Vergr. ca. 1500 ×.

1905 beschrieb Luhs (105 a) die gleichen Formen aus Transkaukasien, wo er sie bei Rinderpest und Piroplasmose als Nebenbefund sah.

Aus Ostasien beschrieben Scott Falshaw 1907 aus Singapore und Schein (158) die gleichen Formen, letzterer sah auch Formen, die den Blepharoplast neben dem Hauptkern, ähnlich dem *Trypanosoma transvaaliense*, trugen.

In eine neue Phase trat die Erforschung dieser Trypanosomen durch den Nachweis, daß es gelang, aus Rinderblut in dem mikroskopisch keine Trypanosomen nachzuweisen waren, Kulturen von Trypanosomen zu erhalten.

Miyajima (124) erhielt auf den Philippinen bei dem Versuch Piroplasmen zu züchten, indem er früheren Autoren folgend defibriniertes Rinderblut in gewöhnliche Nährbouillon brachte, Kulturen von großen Trypanosomen. Er beobachtete zuerst runde Formen, die nach 20 Stunden als große vakuolisierte Kugeln erschienen, die heranwuchsen und nach 48 Stunden sich bereits als Flagellaten zeigten. Die Flagellaten wurden später schlanker und bildeten zahlreiche Rosetten. Miyajima hielt es noch für Kulturen seiner Piroplasmen, bis Martini (110), dann bei der Nachprüfung am gleichen Orte fand, daß es sich um Trypanosomen handle. Er konnte mit den Trypanosomen auch Kälber infizieren.

Bald berichtete auch Crawley (39) aus Nordamerika über ähnliche Resultate,

auch er sah zuerst rundliche Formen, die dann zu 28—60 μ großen Crithidien auswuchsen. Er weist auf die Ähnlichkeit der beobachteten Kulturformen mit *Trypanosoma transvaaliense* hin; er gab seinen Trypanosomen den Namen *Trypanosoma americanum.*

In Deutschland fand dann Frank (53) bei einem verendeten Rind die gleichen Trypanosomen, die von mehreren Seiten unter dem Namen *Trypanosoma franki* bearbeitet wurden.

Die Nachforschung nach der Herkunft dieser Formen wurde von Knuth (70) in sorgfältigster Weise vorgenommen und ihm und Rauchbar (71) gelang es alsbald durch Bouillon-Blutkultur bei scheinbar gesunden Rindern aus verschiedenen Gegenden Deutschlands in zahlreichen Fällen diese Trypanosomen festzustellen.

Es gelang dann seinem Schüler Behn (7) mit Blut scheinbar gesunder Rinder bei einem Kalb eine Trypanosomeninfektion auszulösen, wobei im Blut neben kleinen schlanken Formen, größere breite, auftraten. Knuth vermutet, daß es sich dabei um Geschlechtsunterschiede handelt. Auch auf Rinderblutagar erhielt Behn im Kondenswasser reichliches Wachstum.

Angeregt durch die Befunde Knuth's sind dann in den verschiedensten Weltgegenden, meist auf kulturellem Wege Rindertrypanosomen vom Typus des *Trypanosoma theileri* nachgewiesen worden. Es würde zu weit führen die Arbeiten alle einzeln anzuführen, um so mehr, als beständig neue Berichte eintreffen. Bisher wurden solche Trypanosomen außer in den bereits angeführten Gegenden gefunden in Dänemark, Schweden, England, Frankreich, Griechenland (34), Algier, Tunis (106), Uruguay. Dabei ist erwähnenswert, daß Stockmann (174) sie in England in mit Piroplasmablut geimpften Tieren am 5. und 6. Tage nach der Impfung 2 Tage lang im Blute sah. Ed. u. Et. Sergent (165) beobachteten in Algier, daß die Bouillonkulturen nur gelangen, wenn das Rinderblut vorher defibriniert worden war. Delanoe (43) fand bei Überimpfung aus Blutbouillon das Wachstum auf Nicolleagar sehr spärlich, auf Novyagar reichlich und auf gewöhnlicher Bouillon am langsamsten; im letzteren Falle wuchsen die Trypanosomen in Flocken am Boden, während der obere Teil der Kultur klar blieb.

Peter (138) fand in Uruguay die Trypanosomen im Blut von Rindern und konnte sie auf andere Rinder übertragen. Nach 9—16 tägiger Inkubation konnte er sie 10—12 Tage lang im Blute nachweisen, aber noch nach 11 Monaten war das Blut der Tiere infektiös. Er konnte nur auf Rinder und (weniger leicht) auf Kälber übertragen.

Die Trypanosomen des *Typus theileri* sind als ubiquitäre, wahrscheinlich — ähnlich dem *Trypanosoma lewisi* — kaum virulente, nur auf Rinder angepaßte Trypanosomen anzusprechen. Der Name *Trypanosoma theileri* ist prioritätsberechtigt für die hierher gehörenden Formen.

Es scheint, daß andere Infektionskrankheiten des Rindes (wie Rinderpest, Surra, Maul- und Klauenseuche, Piroplasmosen) eine Vermehrung des *Trypanosoma theileri* im Blute veranlassen: ob es unter diesen Umständen auch virulent werden kann, ist noch unentschieden. In gesunden Tieren ist das Trypanosom meist so spärlich vorhanden, daß es nur kulturell nachweisbar ist. Ob es vielleicht noch andere Formen im Warmblüter bildet, ist nicht auszuschließen.

Die Überträger dürften wohl Stechfliegen sein, wie sie besonders zu gewissen Jahreszeiten auf den Weiden zahlreich das Vieh befallen.

Es scheint von bestimmter biologischer Bedeutung sein, daß *Trypanosoma lewisi* und *theileri* im Gegensatz zu den pathogenen Trypanosomen so leicht züchtbar sind. Da für zahlreiche Vogel- und Kaltblütertrypanosomen die gleichen

Verhältnisse bestehen, scheinen Virulenz und Züchtbarkeit in vitro in bestimmtem Zusammenhang zu stehen.

Dem *Trypanosoma theileri* nahe stehen dürften folgende 4 Formen:

I. Das „Riesentrypanosom" (*Trypanosoma gigantium*) (Lingard).

Lingard (98 und 99) sah zweimal bei Surrarindern lebhaft bewegliche riesige Trypanosomen, 14—23 mal so groß als Erythrocyten. Färbung und Überimpfung mißlang. Im frischen Präparat erschien der Körper rundlich mit einem großen Kern in der Mitte. Er gab ihnen obigen Namen (Fig. 10 *a*).

II. Schönebeck's Trypanosom aus Deutsch-Ostafrika.

Schönebeck (163) beschrieb 1910 ein von ihm zur Gruppe des *Trypanosoma theileri* gestelltes Trypanosom, das er in großer Zahl bei einer akut erkrankten Kuh fand, die an Fieber und großer Schwäche litt. Andere Erreger fanden sich nicht, und die prompte Reaktion auf Atoxyl und Arsenik durch Verschwinden der Trypanosomen und Heilung sprachen für die ätiologische Bedeutung. Das Trypanosom mißt 73—74 μ im Mittel zu 4 μ. Formen über 80 μ fanden sich auch in den Präparaten.



Fig. 10. *a* Riesentrypanosom Lingard's. *b* Schönebeck's Rindertrypanosom aus Deutsch-Ost-Afrika. c. *Trypanosoma ingens* (Bruce, Hamerton usw.) [alle 3 Fig. auf gleiche Größe reduziert].

Die Durchschnittsgröße ist bedeutender als von *Trypanosoma theileri*, außerdem erinnert der Bau mit seiner Myomenandeutung und desgleichen der stets breite unregelmäßig begrenzte nur schwach färbbare Kern — im Gegensatz zu dem fast stets ovalen von *Trypanosoma theileri* — sehr an das von Bruce gefundene *Trypanosoma ingens*. Ich möchte deshalb dies Trypanosom nach nochmaligem Studium der Präparate zu den „Riesentrypanosomen" stellen und glaube, daß das folgende, später beschriebene, mit ihm identisch oder nahe verwandt ist (Fig. 10 *b*).

III. *Trypanosoma ingens* (Bruce, Hamerton, Bateman und Mackie).

Das Trypanosom wurde in Uganda bei einem Riedbock, Buschbock und Rind gefunden (30). Es maß bis 122 μ zu 7—10 μ. Der Kern lag näher dem Hinterende als dem Vorderende. Hinter dem Kern waren zahlreiche Granula im Proto-

plasma, davor deutlich Myoneme sichtbar. Die Trypanosomen hatten eine freie Geißel.

Es erscheint sehr wahrscheinlich, daß dieselben Trypanosomen vorlagen, wie sie LINGARD und SCHÖNEBECK gesehen. Um Abarten von *Trypanosoma theileri* könnte es sich dabei auch handeln. (Textfig. 10, c.)

IV. *Trypanosoma wrublewskii* (WLADIMIROFF und YAKIMOFF).

Ein dem *Trypanosoma theileri* nahestehendes Trypanosom fand WRUBLEWSKI (194) beim Wisent (Bonassus-Bison) Lithauens. Die untersuchten Präparate entstammten alle Leichenblut (oft zersetzte Kadaver). Das Trypanosom mißt 30 bis 50 μ. Das Hinterende ist äußerst lang gezogen und endet stumpf. Der Kern liegt ungefähr in der Mitte und ist rundlich. Dicht bei ihm, aber stets vor ihm, dem Geißelende zu, liegt als quergelagertes abgerundetes Stäbchen der Blepharoplast. Die Geißel ist ziemlich lang. Es fanden sich auch Zweiteilungen und Formen mit bis zu 6 Kernen. Da es sich um Kadaverblut gehandelt hat, halte ich letztere für atypische Teilungsformen, wie sie in überlebendem Blute nicht selten zu finden sind. Die konstante Lagerung des Blepharoplasten vor dem Kern und das stets stumpf endende langgezogene Hinterende unterscheidet das Trypanosoma von *Trypanosoma theileri*. WLADIMIROFF und YAKIMOFF schlagen daher den Namen *Trypanosoma wrublewskii* dafür vor.

Trypanosoma gambiense (DUTTON).

(Erreger der menschlichen Trypanosomiasis, Schlafkrankheit.)

Seit Beginn des 19. Jahrhunderts mehrten sich die Berichte über eine an der Westküste des tropischen Afrika endemisch herrschende Seuche, die chronisch verlaufend unter lethargischen, schlafsuchtartigen Zuständen zum Tode führte. Seit Ende des 19. Jahrhunderts erforschten eine Reihe von Kommissionen der interessierten Staaten diese Seuche an Ort und Stelle. Es zeigte sich bald, daß diese in Äquatorialafrika weit verbreitet ist; und in den letzten Jahren hat sie sich stets noch weiter ausgedehnt. Es schien, daß sie stets den Flußläufen folgend von der Westküste aus sich nach Osten zu weiter verbreitet hat; es sind dies vor allem der Senegal, Niger, Congo, obere Nil und deren Nebenflüsse; neuerdings die Ufer der zentralafrikanischen Seen.[1]) Historisch interessant ist, daß die Seuche in Westafrika nach einer von BECKER (6) mitgeteilten Schilderung eines Falles nach einem arabischen Text, bereits im 14. Jahrhundert vorkam.

1901 erkannte DUTTON bei einem Fieberkranken in Gambia Parasiten im Blut, die FORDE bereits gesehen und als „Würmchen" bezeichnet hatte, als Trypanosomen. Diese Befund wurde bald in mehreren Fällen bestätigt. 1903 fand CASTELLANI in der Cerebrospinalflüssigkeit einiger Schlafkranker in Uganda gleichfalls Trypanosomen; auf deren event. ätiologische Bedeutung von BRUCE hingewiesen, nahm er diese Untersuchungen erneut auf und erkannte die Trypanosomen denn auch als die Erreger der Schlafkrankheit (*Trypanosoma ugandense*, CASTELLANI).

Eine Zeitlang hielt man die beiden beobachteten Krankheiten für nicht zusammengehörig, bis sich herausstellte, daß sie verschiedene Stadien ein und derselben Krankheit und die Erreger identisch seien, die demnach den Namen *Trypanosoma gambiense* (DUTTON) führen.

[1]) Die genaue geographische Verbreitung kann hier nicht gegeben werden. Vgl. Karte des Sleep. sickness bureau London.

Klinik.

Die menschliche Trypanosomiasis bietet in ihrem Verlauf zahlreiche klinische Eigentümlichkeiten dar, die ganz ähnlich denen bei tierischen Trypanosomiasen sind. Die Krankheit verläuft in der Regel chronisch und man hat lange Zeit das erste Stadium als Trypanosomenfieber, das Endstadium als Schlafkrankheit voneinander abgetrennt. Beiden voraus geht ein Latenzstadium, in dem überhaupt kaum klinische Symptome in die Erscheinung treten.

Die Incubation kann offenbar von beträchtlicher Dauer sein, d. h. vom rein klinischen Standpunkt betrachtet. Es kann das Latenzstadium sicher über 1 Jahr betragen; in anderen bei Europäern beobachteten Fällen dauerte die Incubation nur wenige Wochen.

Als frühestes erkennbares klinisches Symptom gilt eine Schwellung der Lymphdrüsen und besonders der Halslymphdrüsen, in denen dann durch Punktion Trypanosomen nachgewiesen werden können. Gerade zu Beginn der Erkrankung ist die Schwellung oft deutlicher als während der späteren Stadien. Die Schwellung ist meist nicht sehr hochgradig. Durch Drüsenuntersuchung in verseuchten Gegenden werden hauptsächlich zahlreiche Kranke frühzeitig eruiert, der Behandlung zugänglich und durch Entfernen aus bedrohtem Gebiet als Parasitenträger unschädlich gemacht.

Weitere im Beginn häufige Krankheitserscheinungen betreffen die Haut. Erythematöse Flecken treten sehr häufig auf, sie sitzen meist im Gebiete des Gesichts, des Rückens, der Brust, der Extremitäten. Es sind taler- bis handtellergroße rote oder blaurote Flecke. Die Flecke können ganz plötzlich entstehen und nach einigen Tagen ebenso verschwinden (vgl. Dourine). Oft erscheinon nicht nur Flecken, sondern auch Ödeme flüchtiger Natur. Im Gesicht sind besonders charakteristisch Ödeme der Augenlider. Diese Erytheme und Ödeme treten auch späterhin, selbst im letzten Stadium immer wieder auf. Außerdem sind Exantheme beschrieben worden, die bald als kleine Papeln, bald als fleckiges Exanthem, eventuell als Bläscheneruptionen auftreten sollen.

Von seiten des Nervensystems bestehen oft frühzeitig Symptome in Form starker Kopfschmerzen, auch häufige Schwindelanfälle, ferner Muskelzittern und vorübergehende Lähmungen (Facialis) kommen vor. Eine allgemeine Hyperästhesie als Nervenschmerz im Gebiet des Ischiadicus und N. trigeminus sind nicht selten; tiefe sehr schmerzhafte Hyperästhesien hat ein Arzt an sich selbst beobachtet.

Das Fieber, das dem ersten Krankheitsstadium den Namen Trypanosomenfieber gegeben hat, zeigt keinen regelmäßigen Charakter. Es verhält sich genau wie bei der tierischen Trypanosomiasis, indem es anfallsweise einsetzt, um nach einigen Tagen wieder abzuklingen. Gleichzeitig mit diesen Anfällen kommt es zum Auftreten der Erytheme und Ödeme. Trypanosomen finden sich während dieser Attacken meist im peripheren Blute.

Ein häufiges Symptom ist die hohe Pulsfrequenz bei Trypanosomiasis. Auch außerhalb der Anfälle ist die Pulszahl meist um 100; im Fieber bis 120 bis 140 steigend.

Diese Symptome können wochen- bis monatelang dauern, ohne daß ein schwereres Krankheitsbild entsteht, schließlich aber kommt es unter Zunahme der Symptome, stärkerer Anämie, geistiger und körperlicher Schwäche allmählich zur Ausbildung des als „Schlafkrankheit“ bezeichneten Endstadiums. Die ersten Zeichen des Übergangs in dies Stadium sind Zunahme der Kopfschmerzen, häufige Schwindelanfälle und vor allem eine leichte Ermüdbarkeit. Der Patient wird träge und

lässig in seiner Arbeit, er wird stiller, einsilbiger und neigt zu häufigem Schlafen. Die Sprache wird zögernd, langsam, später direkt lallend und erinnert an die Sprache des Paralytikers. Muskelzittern und fibrilläre Zuckungen treten oft konstant auf, vor allem ein Zittern der Zunge ist ein sehr charakteristisches Symptom; auch Krämpfe tonischer und klonischer Natur kommen vor. Der Gang wird schleppend, taumelnd; ROMBERG'sches Phänomen besteht. Die Koordinationsstörungen können ein sehr wechselndes Bild bieten.

Kommt es zur Ausbildung der Somnolenz, so verfallen die Leute, die auch im wachen Zustand ganz apathisch sind, sich selbst überlassen, sofort in einen leichten Schlummer. Anfangs können sie daraus noch leicht erweckt werden, später nimmt der soporöse Zustand immer mehr zu, die Kranken schlafen dann sogar während des Essens ein. Damit nimmt auch die Intelligenz allmählich ab.

In anderen Fällen kommt es aber nicht zu diesem stuporösen Zustand, sondern im Gegenteil zu schweren Erregungszuständen, die sich in Tobsuchtsanfällen äußern können. Die Kranken schreien, lachen andauernd, haben großen Bewegungsdrang und müssen eventuell sogar gefesselt werden; daneben kommen epileptiforme Krampfanfälle vor.

Im Endstadium besteht meist hohes Fieber unregelmäßiger Art, oft mit kurzen Remissionen.

Leber und Milz sind stark geschwollen, die Ödeme des Gesichts werden konstant, das Blut wird mehr und mehr anämisch, die Atmung ist beschleunigt.

Allmählich kommt es zu oft enormer Abmagerung, Muskelatrophien, Sphincterenlähmungen. Der Tod tritt häufig durch intercurrente Krankheiten (Pneumonien, akute Meningitis) ein.

Die Dauer des zweiten Stadiums kann gleichfalls Wochen und Monate betragen.

Alles in allem kann das klinische Bild der menschlichen Trypanosomiasis manche Schwankungen zeigen. Die im zweiten Stadium vorherrschenden nervösen Symptome werden nach Ansicht der meisten Autoren durch das Eindringen der Trypanosomen in die Cerebrospinalflüssigkeit bedingt, in der sie sich durch Punktion meist nachweisen lassen. Im Blute sind sie nicht immer zu treffen, aber durch Untersuchung in dicken Tropfen und durch Tierimpfung doch oft festzustellen.

Pathologische Anatomie.

Leber, Milz, Lymphdrüsen sind entzündlich vergrößert, die Lungen sind oft ödematös, kleine Hämorrhagien an ihrer Oberfläche kommen vor. Auch auf der Magenschleimhaut sind Hämorrhagien und Ulzerationen gefunden worden. Das Knochenmark erscheint meist dunkelrot. Die Nieren sind oft hyperämisch.

Am charakteristischsten sind die Veränderungen am Centralnervensystem, Veränderungen, die Vergleiche mit denen bei syphilitischen Krankheiten, insbesondere der progressiven Paralyse herausforderten. Durch Untersuchungen MOTT's (128) und SPIELMEYER's (172) sind die Befunde eingehend spezialistisch geprüft worden.

MOTT faßt die Krankheit als eine chronische Polyadenitis auf, in deren weiterer Folge es zu einer chronischen Entzündung des Lymphgefäßsystems des Gehirns und Rückenmarks kommt.

Der pathologisch-anatomische Prozeß, der der Schlafkrankheit zugrunde liegt, bewirkt nach SPIELMEYER diffuse nichteitrige Infiltrationen in allen Körperorganen, Einlagerungen von Plasmazellen und lymphocytären Elementen. Besonders deutlich sind nach ihm diese Entzündungsprozesse im Centralnervensystem, den

Lymphdrüsen, der Milz und dem Herzmuskel. Man findet stets Entzündung, Verdickung und Verwachsungen der Hirnhäute.

Mikroskopisch findet sich besonders eine weitverbreitete Zellinfiltration um die Gefäße. Sie geht von den Meningen aus und folgt den Gehirngefäßen entlang bis zu den kleinsten Capillaren bis in die Tiefe der Windungen.

Unter den Infiltratzellen überwiegen die Plasmazellen.

Veränderungen am spezifischen Nervengewebe selbst sind stets sekundärer Natur, sie sind die Folgen und Begleiterscheinungen der entzündlichen Vorgänge und haben an sich nichts Charakteristisches· Hierher gehören Degenerationen an den Zellen des Kleinhirns, Veränderungen der Tangentialfasern an der Hirnrinde, Degeneration von Fasersträngen des Rückenmarks. Es kann dabei das Bild einer progressiven Paralyse vorgetäuscht werden. Es besteht aber der Unterschied, den Mott und Spielmeyer betonen, daß hier die interstitiellen Vorgänge stets die primären sind, im Gegensatz zur Paralyse, bei der ja die parenchymatösen Veränderungen den Anfang bilden. (Ausführliches in dem mit instruktiven Bildern versehenen Buche Spielmeyer's [l. c.]).

Morphologie des *Trypanosoma gambiense.*

Bei der morphologischen Betrachtung des *Trypanosoma gambiense* kann als sicher gelten, daß *Trypanosoma gambiense* und *ugandense* identisch sind, dafür spricht schon die offenbare Ausbreitung der Seuche von Westen her. Klinische Unterschiede bestehen auch nicht. Für die neuerdings von Castellani ausgesprochene Ansicht, die beiden Formen als getrennte zu behandeln, fehlt bisher jede Begründung. Geringe Unterschiede lassen sich durch Virulenzschwankungen vollauf zur Genüge erklären.

Das *Trypanosoma gambiense* ähnelt in Größe und Form dem *Trypanosoma brucei* und *evansi*, auch bei ihm kommen beträchtliche Größenschwankungen vor. Es mißt 16—30 μ zu 1,5—2 μ. Die Geißel ist meist sehr gut entwickelt. Im Innern finden sich oft zahlreiche schwärzlich oder rot gefärbte Granula. Das Hinterende erscheint oft zugespitzt. Sehr deutlich sind manchmal Geschlechtsunterschiede gerade bei *Trypanosoma gambiense* wahrzunehmen, deren Charakteristika im allgemeinen Kapitel näher beschrieben sind. Bei Trypanosomen aus ödematösen Stellen oder der Cerebrospinalflüssigkeit finden sich manchmal große Vacuolen, die wohl als Involutionszeichen aufzufassen sind. Zweiteilungsformen finden sich gleichfalls oft. Sogenannte amöboide Formen hat Castellani aus der Cerebrospinalflüssigkeit beschrieben, die Degenerationen darstellen dürften. Das biologische Verhalten des *Trypanosoma gambiense* bietet gegenüber den anderen Trypanosomen keine wesentlichen Besonderheiten.

Übertragung auf andere Tiere.

Das *Trypanosoma gambiense* läßt sich experimentell auf zahlreiche Tiere übertragen, wobei, abgesehen von Virulenzschwankungen, mit den verschiedensten Stämmen die gleichen Befunde erhoben werden konnten. Charakteristisch für das Trypanosom ist dabei nach den Beobachtungen verschiedener Autoren und unserer eigenen, daß von gleichzeitig mit demselben Virus geimpften Tieren ein Teil akut, ein Teil chronisch erkranken kann, eine Beobachtung die bei der Beurteilung von Resultaten auf Grund spärlicher Tierversuche beachtet werden muß.

Weiße Ratten und Mäuse sind sehr empfänglich, die Infektion verläuft meist chronisch und ist einigermaßen von der Menge des injizierten Virus ab-

hängig. Einer unserer Stämme (aus Kamerun) wird seit 6 Jahren in Mäusen fortgezüchtet, die er bei subkutaner Infektion mit mäßigen Dosen in 6—8 Wochen tötet; ein anderer auf Ratten seit 1904 gezüchteter (aus Uganda) tötet diese in ca. 3 Wochen. Es kommt aber vor, daß einzelne Tiere überleben und genesen; häufig sahen wir auch Ratten an rezidivierender Infektion oft noch nach Monaten sterben. Bei anderen Stämmen scheint dies noch häufiger zu sein. BECK (5) verfügt über einen Stamm, der Mäuse in 8—10 Tagen tötete. PLIMMER und BRADFORD (140) beobachteten bei Ratten nach Affenpassage Lähmungen der hinteren Extremitäten.

Beim Tode findet man Schwellung der Lymphdrüsen und oft ganz kolossale Milztumoren. Die Trypanosomen erscheinen in Ratte und Maus oft sehr stark granuliert und breite kurze Formen wechseln oft mit langen schmalen. Eine hinreichende Erklärung hierfür ist noch nicht gefunden. Bei Ratten, die an

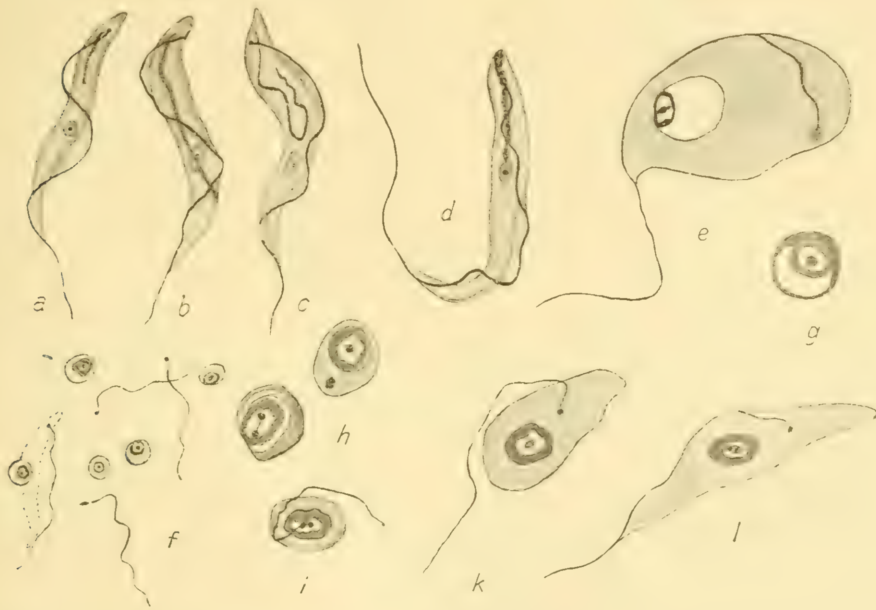


Fig. 11. Entwicklungszyklus von *Trypanosoma gambiense* in der Ratte nach SALVIN-MOORE und BREINL. *a—d* verschiedene Stadien der „black line" (½ verkleinert!). *e* Form aus der Lunge mit Vakuolenbildung am Kern (Periode des Verschwindens der Trypanosomen). *f* Entstehung der „latent bodies" (schwache Vergrößerung). *g* latent body. *h* latent bodys mit Centrosom-Teilung. *i* latent body mit Geißelbildung. *k* und *l* spätere Stadien der aus latent bodies entstehenden kleinen Trypanosomen.

chronischer rezidivierender Erkrankung litten, haben nun SALVIN-MOORE und BREINL (154) nach den Parasiten während der Latenzperiode gesucht und glauben dabei einen eigentümlichen Entwicklungscyclus festgestellt zu haben. Sie fanden auf der Höhe der Infektion zunächst die Ausbildung und den Zerfall des Axialfadens (black line). Beim Verschwinden der Trypanosomen aus dem tierischen Blut sahen sie dann in inneren Organen, insbesondere in der Lunge, aber auch in Knochenmark und Milz zunächst eine Umwandlung des Kernes, um den sich eine Vakuole bildete, und später unter Zerfall des Protoplasmaleibes, Abstoßen des Geißelapparates das Zurückbleiben der umgewandelten Kernzone als kleine rundliche, cystenartige

Formen. Diese Gebilde „latent bodies“ fanden sie während der ganzen Zeit des Fehlens der Trypanosomen im peripheren Blute. Gegen Ende dieser Periode kommt es zu Teilungen des Centrosoms dieser Formen, es entwickelt sich der Geißelapparat von neuem und das anfangs noch runde Gebilde streckt sich bis zur Trypanosomenform. Die beigefügte Textfigur 11 erläutert den angenommenen Entwicklungsgang wohl am besten.

Bisher ist dieser Entwicklungscyclus, den die Autoren in ähnlicher Form auch bei anderen Trypanosomen sahen, noch nicht anerkannt worden.

Auch bei Kaninchen und Meerschweinchen verläuft die Infektion chronisch; sie dauert fast stets mehrere Monate (Meerschweinchen 3—5, Kaninchen 4—5 bei Beck), bei einzelnen Tieren geht sie überhaupt nicht oder erst nach mehrfacher Injektion an. Trypanosomen finden sich im Blut meist spärlich, oft gar nicht, dagegen fanden Bentmann und Günther (7a) im Knochenmark meist große Mengen. Klinisch hat Beck bei Kaninchen Schwellungen der Augenlider, Eiterung aus der Nase, Haarausfall und Scrotalnekrosen beobachtet; Veränderungen, die denen bei Dourine ganz ähnlich waren.

Hunde sterben nach 5—6 Wochen; Katzen nach ca. 3 Wochen. Wenig empfänglich sind Pferde, Schafe, Ziegen, Schweine und Rinder. Von niederen Affen sind Macacen und Cercopithecen leicht zu infizieren. Die Krankheitsdauer schwankte bei Bentmann und Günther's Versuchen zwischen 63 und 211 Tagen (Stamm Kamerun) bzw. 285—37 (Stamm Uganda); einzelne Affen zeigten Schlafsucht.

Ausgesprochene Veränderungen des Centralnervensystems, ähnlich denen bei Menschen, konnte Spielmeyer, der zahlreiche Versuchstiere (16 Affen, ferner Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde) daraufhin untersuchte, nicht feststellen. Von anderer Seite existieren Angaben über solche Befunde bei Affen.

Zusammenfassend kann betont werden, daß *Trypanosoma gambiense* selbst bei kleinen Versuchstieren meist recht chronische Infektionen verursacht, daß dabei die Trypanosomen im peripheren Blute oft sehr spärlich bleiben. Die krankhaften Veränderungen betreffen hauptsächlich Milz, Knochenmark und Lymphdrüsen.

Natürliches Vorkommen von *Trypanosoma gambiense* bei anderen Tieren.

Es lag natürlich die Annahme nahe, daß auch andere Tiere als der Mensch Wirte für das *Trypanosoma gambiense* sein könnten.

Gray und Tulloch (57) fanden in Uganda bei zwei Hunden denn auch Trypanosomen, die sie auf Grund des morphologischen Aussehens und ihrer Tierexperimente für *Trypanosoma gambiense* hielten.

Bruce und sein Mitarbeiter (26) fanden unter 17 Rindern aus infizierter Gegend eines, von dem sie annahmen, daß es mit *Trypanosoma gambiense* infiziert sei. Daß Rinder durch *Glossina palpalis* im Versuche damit infiziert werden können und diese sich umgekehrt daran infizieren kann, bewiesen sie gleichfalls.

Kleine und Taute (68) glauben, daß wohl einmal ein infiziertes Schaf oder Rind sich in verseuchter Gegend finden könne, sie selbst sahen aber bei 150 Rindern, Ziegen und Schafen aus dem mit *Trypanosoma gambiense* schwer verseuchten Flußgebiet des Mori kein einziges Trypanosom. Desgleichen fahndete die Koch'sche Expedition (8) in verseuchten Gegenden bei Rindern, Ziegen, Schafen, Hunden, verwilderten Schweinen, Nilpferden, Tragelaphus-Antilopen vergebens danach. Es wurde ihnen mitgeteilt, daß auf den mit *Trypanosoma gambiense* stark verseuchten Sese-Inseln die meisten Hunde gestorben seien. Nur einmal

wurden bei einem Affen, der frisch eingefangen war, Trypanosomen gefunden. Auch bei Vögeln und Reptilien wurden keine Trypanosomen vom Typus des *Trypanosoma gambiense* gesehen.

Natürliche Übertragungsweise von *Trypanosoma gambiense*.

Schon lange war erkannt worden, daß die menschliche Trypanosomiasis in ihren endemischen Herden an zwei Bedingungen gebunden war, 1. an die Nähe von Wasserläufen und 2. an das, wiederum an die Nähe von Wasserläufen gebundene, Vorkommen von *Glossina palpalis*. Diese Tatsache konnte von allen wissenschaftlichen Kommissionen bestätigt werden.

Bruce, Nabarro und Greig (32) konnten mit wildgefangenen *Glossina palpalis* — die zum Teil an Schlafkranken sogen — Affen infizieren.

Gray und Tulloch (58) waren dann die ersten, die in Glossinen Trypanosomenentwicklungsstadien fanden, die sie für zu *Trypanosoma gambiense* gehörig ansahen; sie sahen vor allem eine Vermehrung eintreten. Unter den Formen waren solche, die den Blepharoplasten vor dem Kern zeigten, dabei ganz schmale. Eine Übertragung gelang ihnen nicht. Die gesehenen Formen wurden, nachdem in schlafkrankheitfreien Gegenden Glossinen mit Flagellaten gefunden waren, von verschiedener Seite als nicht zum Cyclus von *Trypanosoma gambiense* gehörend erklärt und ein Teil der Formen als *Trypanosoma grayi* und *tullochi* beschrieben.



Fig. 12. *Glossina palpalis* (ca. 3 ×).

Kleine und Taute (68) haben die Fragen inzwischen, ähnlich wie bei *Trypanosoma brucei*, auch für *Trypanosoma gambiense* in einwandfreier Weise gelöst. Sie machten Serienversuche mit gezüchteten *Glossina palpalis* an Affen. Die Fliegen wurden nach 20 Tagen, einigemal auch schon früher, infektiös, und blieben es für längere Zeit. Unter 410 Fliegen wurden 22 infektiös befunden bei Einzelprüfung, das sind ca. 5 Proz.; und da ungefähr die Hälfte der Fliegen während des Verlaufs starb, nehmen Kleine und Taute den doppelten Prozentsatz gelungener Dauerinfektion = 10 Proz. an. Das stimmt genau mit den Zahlen, die bei den Versuchen mit *Trypanosoma brucei* von anderen Autoren festgestellt worden sind.

Bruce und seine Mitarbeiter (31) konnten die Versuche vollkommen bestätigen. Mit gefangenen Fliegen erhielten sie in einer ersten Versuchsreihe Infektiosität 18 Tage nach der Trypanosomenfütterung und die Fliegen waren noch nach 75 Tagen infektiös. Es zeigte sich, daß es sich zuletzt um eine einzige Fliege dabei handelte, nach deren Tode das Experiment nicht mehr gelang; Darmsaft dieser Fliege erwies sich bei der Injektion als infektiös.

In anderen Versuchsreihen fanden die Autoren in 14 Serien mit gefangenen Fliegen, von denen 7 positiv ausfielen, eine Entwicklungszeit von 18—45, im Mittel 32 Tagen. Mit aus eingesammelten Puppen gezüchteten Fliegen waren von 42 Experimenten nur 8 positiv. Die Entwicklungszeit betrug 27—53, im Mittel 36 Tage. Im ganzen wurden 746 Fliegen verwendet, von denen mehr als 5 Proz. infektiös wurden.

Die Entwicklungszeit in den Versuchen von Bruce und seinen Mitarbeitern war bedeutend länger als in denen von Kleine und Taute. Kleine glaubt, daß Lufttemperatur und Feuchtigkeit, Häufigkeit und Art der Blutnahrung der Fliege und auch Verschiedenheiten der Trypanosomenstämme eine Rolle spielen könnten.

Bei der mikroskopischen Beurteilung der Entwicklungsformen konnten Kleine und Taute den endgültigen Beweis liefern, daß die früher auf Grund der Flagellatenbefunde von Gray und Tulloch, Koch, Stuhlmann, Keysselitz und Mayer u. a. angenommene Art der Entwicklung in dieser Weise stattfinde und daß die Mehrheit der gesehenen Formen in den Entwicklungskreis der betreffenden Trypanosomen gehöre.

Sie sahen bei Giemsafärbung 1. weibliche Formen, die groß und breit waren, mit blauem, zahlreiche Granula enthaltendem Protoplasma. Der Kern ist aufgelockert und oft sind 8 Chromosome darin rosettenförmig angeordnet; manche Formen haben mehrere Kerne. Der Blepharoplast liegt fast stets hinter dem Kern, die Geißel ist meist kurz, geißellose Formen kommen auch vor. Die weiblichen Formen fanden sich besonders im Vorder- und Mitteldarm (Textfig. 13*a*).



Fig. 13. *a* weibliche Form. *b*—*d* männliche Form von *Trypanosoma gambiense* aus dem Darm. *e* kleines Trypanosom aus dem Rüssel einer künstlich infizierten *Glossina palpalis*. Nach Kleine und Taute.

2. Männliche Formen: Ganz dünne, schlanke Flagellaten mit zartem sich hell rötlich färbendem Protoplasma. Der Kern ist langgezogen, kompakt und intensiv gefärbt (auf den Bildern sind auch sprossenartig angeordnete Chromosome zu erkennen), er liegt meist ziemlich nahe dem Hinterende. Der Blepharoplast liegt gewöhnlich vor dem Hauptkern.

Die männlichen Formen wurden besonders in Vorder- und Mitteldarm beobachtet, oder auch vereinzelt im Proventrikel und einmal im Rüssel. Bei den infektiösen Fliegen waren sie im Gegensatz zu den weiblichen Formen stets spärlich. Kleine und Taute halten es für wahrscheinlich, daß die männlichen Formen sich durch fortwährende Teilungen zu immer kleineren und schlankeren Individuen umgestalten, die dann bei der Befruchtung die Rolle von Mikrogameten spielen. (Fig. 13*b*, *c*, *d*.)

Außer Übergangsformen zu männlichen und weiblichen Formen wurden 3. Ruhestadien und amöboide Stadien beobachtet; 4. fertig ausgebildete Trypanosomen vom Typus gambiense fanden sich — nachdem die betreffenden Fliegen wochenlang kein trypanosomenhaltiges Blut gesogen hatten — im Darmsaft und Rüssel. Die Autoren halten sie für die das Ende der Entwicklung darstellenden übertragbaren Formen. (Textfig. 13 *e*.)

In den Speicheldrüsen fanden sie nur zweimal unter 12 Fällen Ruheformen. Bruce und seine Mitarbeiter fanden einmal zahlreiche, aufgelockert erscheinende, Formen in der Speicheldrüse bei Fehlen in anderen Organen.

Im Vorderdarm, Proventrikel und Rüsselsekret wurden große Trypanosomen mit langem geschichteten Kern gefunden, die früher als *Trypanosoma tullochi* bezeichnet, nach Kleine und Taute Vorstufen zu den Endstadien darstellen.

Für eine Bildung von Dauercysten und eine Vererbung wurden keine Anhaltspunkte gefunden.

Erwähnt sei, daß es Bruce und seinen Mitarbeitern gelang mit flagellatenhaltigem Darmsaft zu infizieren.

Die als *Trypanosoma grayi* bezeichnete Form hat nach Kleine und Taute nichts mit *Trypanosoma gambiense* gemein, sondern stellt Entwicklungsformen von Kaltblütertrypanosomen dar, wie durch Fütterung gezüchteter Glossinen an infizierten Krokodilen gezeigt werden konnte. (Koch hatte dies bereits vermutet.)

Die männlichen Formen von *Trypanosoma grayi* in der Fliege sind ganz dünne Flagellaten mit sehr langer Geißel; der Blepharoplast liegt vor dem sehr intensiv gefärbten Kern. Sie ähneln den ♂ von *Trypanosoma gambiense*, nur sind sie länger und zarter. Die Weibchen sind breiter, das Protoplasma färbt sich blaß, der Blepharoplast liegt gleichfalls vor dem lockeren Hauptkern. Übergangsformen und Ruheformen kommen auch vor. Cysten und Vererbung wurden nicht beobachtet.

Damit ist die Entwicklung von *Trypanosoma gambiense* in der *Glossina palpalis* in den Hauptfragen geklärt und könnte höchstens durch Schnittserien noch weiter ausgebaut werden (Fig. 14).



Fig. 14. *Trypanosoma grayi* aus *Glossina palpalis*. *a* weibliche Form. *b* und *c* männliche Formen. Nach Kleine un Taute.

Betreffs der Dauer der Infektiosität ist es wahrscheinlich, daß die Fliegen sie während ihres ganzen Lebens behalten. Bruce und seine Mitarbeiter (28) fanden an seit 2 Jahren von Bewohnern geräumten Plätzen des Victoria Nyanza noch infizierte

Fliegen, doch ist nicht auszuschließen, daß diese dort inzwischen noch Gelegenheit zur Infektion hatten.

Eine mechanische Übertragung mit *Glossina palpalis* gelang Bruce und seinen Mitarbeitern (27) nur bei unterbrochener Fütterung ohne Zwischenpause.

Was die Übertragung von *Trypanosoma gambiense* durch andere Glossinen betrifft, so wurde allerdings in *Glossina morsitans* eine Entwicklung von Männchen und Weibchen gesehen, aber die Übertragung mißlang.

Neuerdings sind nun im Nyasaland und Rhodesia ca. 30 Fälle von menschlicher Trypanosomiasis gefunden worden in Gegenden, wo *Glossina palpalis* fehlt, dagegen *morsitans* und *brevipalpis (fusca)* vorkommt (s. a. unter *Trypanosoma rhodesiense*). Die Frage, ob diese für die Übertragung in Betracht kämen und auch andere Tsetsen unter Umständen als Überträger wirken können, ist noch unentschieden. Auf jeden Fall spricht der enge Zusammenhang des Vorkommens von Schlafkrankheit und *Glossina palpalis* dafür, daß Übertragung durch andere Tsetsen gewöhnlich nicht stattfindet.

Direkte Übertragung von *Trypanosoma gambiense* durch die Haut und Schleimhaut ist bei Tieren möglich, es scheint aber, daß doch geringe Verletzungen derselben dazu nötig sind. Versuche von Martin und Ringenbach (109) am Meerschweinchen bewiesen dies; am besten gelang die Infektion dabei per vaginam.

Daß auch auf natürliche Weise eine Übertragung durch den Geschlechtsverkehr stattfinden kann, dafür sprechen Beobachtungen von Kudicke (75), der schlafkranke Frauen in *Glossina palpalis*-freien Gegenden feststellte, die Verkehr mit infizierten Männern gepflogen hatten.

Trypanosoma rhodesiense (Stephens und Fantham).

(Gefunden bei Schlafkranken aus Rhodesia.)

Das untersuchte Trypanosom stammte von einem unbehandelten Eingeborenen aus Nordwest Rhodesia, der nie in *Glossina palpalis*-Gegenden gewesen sein soll, sondern nur in solchen, in denen *Glossina morsitans* zahlreich war.



Fig. 15. Verschiedene Formen von *Trypanosoma rhodesiense* aus der Ratte nach Stephens und Fantham.

Stephens und Fantham (173) fiel bei Arbeiten mit diesem Stamme aus der Ratte eine morphologische Besonderheit auf, nämlich: Das Vorkommen kurzer plumper Formen, bei denen der Kern nahe dem Hinterende lag.

Es fanden sich alle Übergänge von der gewöhnlichen Form bis zu den ganz plumpen, bei denen eventuell der Kern sogar hinter dem Blepharoplast lag (Fig. 15).

Bei Überimpfung auf neue Ratten traten nach ungefähr 3 Tagen gewöhnliche lange Formen auf und am 5.—6. breite plumpe, die an Zahl zunahmen bis zum

7.—11. Tag, an denen sie ca. 6% aller Formen ausmachen, dann nehmen sie eventuell wieder an Zahl ab. Der Tod trat in ca. 14 Tagen ein. Die betreffenden Formen messen 17—21 μ zu 2—3 μ.

Die gleichen Formen traten auch bei Affen, Kaninchen, Meerschweinchen. Hunden, Mäusen, Pferd und Esel auf (Warrington-Yorke [188]). Bei dem betreffenden Kranken selbst fanden sich keine solchen Formen, doch waren bei ihm überhaupt stets nur spärliche Trypanosomen nachzuweisen; der Sektionsbefund nach seinem Tode ergab keine Besonderheiten.

Die Autoren erinnern an die Beobachtung ähnlicher Formen bei *Trypanosoma theileri (= transvaaliense)*, glauben aber, daß es sich mindestens um eine „Varietät" oder „lokale Rasse" handelt, um so mehr als *Glossina palpalis* nicht als Überträger in Betracht kommen kann.

Auch im Tierversuch verhielt sich *Trypanosoma rhodesiense* etwas anders als *Trypanosoma gambiense* nach Versuchen von Warrington-Yorke (188); es war bei verschiedenen Tieren virulenter als das gewöhnliche *Trypanosoma gambiense*. Der Verlauf bis zum Tode war der folgende:

Affen (9—14 Tage), Ziegen (6—8 Wochen), Kaninchen (4—6 Wochen), Meerschweinchen (2 Monate), Hund (12 Tage), Maus (11 Tage), Ratte (19 Tage), Esel (28 und 41 Tage), Pferd (38 Tage).

Schizotrypanum cruzi (Chagas).

(Erreger der brasilianischen menschlichen Trypanosomiasis.)

1907 fand Chagas (37, 38) im Norden des brasilianischen Bundesstaates Minas Geraes bei der Untersuchung von Wanzen Crithidien in deren Darmtraktus. Es handelte sich um *Conorrhinus megistus* Burm., aus der Familie der Reduviidae (Textfig. 16). Es gelang alsbald Oswaldo Cruz, der die Wanzen an einem Pinselaffen *(Callithrix penicillata)* saugen ließ, diesen zu infizieren. Er wies 20—30 Tage später charakteristische Trypanosomen auf.

Chagas konnte dann auch Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde und andere Affen infizieren, für die sich der Parasit als pathogen erwies. Da es sich um eine Wanze handelte, die mit Vorliebe Menschen sticht, lag der Gedanke nahe, daß das gefundene Trypanosom ein Parasit des Menschen sein könnte. Die von Chagas zur Lösung dieser Frage neuerdings aufgenommene Untersuchung bestätigte diese Vermutung vollständig und er konnte feststellen, daß das Trypanosom der Erreger einer wohlcharakterisierten menschlichen Erkrankung dieser Gegenden ist.



Fig. 16. *Conorrhinus megistus*. (Nach Chagas.) (ca. 1½ ×.

Klinik.

Die Krankheit scheint hauptsächlich Kinder zu befallen. Folgendes waren die deutlichsten Symptome: hochgradige Anämie mit starkem organischem Verfall und

eine im Verhältnis sehr auffällige Verspätung der Entwicklung mit ausgesprochenem Infantilismus; Ödeme, die bei einigen Patienten generalisiert, bei anderen auf gewisse Zonen beschränkt waren; Lymphdrüsenschwellungen, die an allen peripheren Gruppen zum Ausdruck kamen, so daß große Nacken-, Achsel-, Schenkel- und Leistendrüsen beobachtet wurden; eine sehr konstante und oft beträchtliche Milzschwellung; ferner verschiedene funktionelle Störungen, besonders des Nervensystems, so namentlich Verfall der Intelligenz bis zur Imbezillität.

In mehreren Fällen gelang es dabei Chagas den Parasiten entweder direkt im Blut des Menschen zu finden oder durch Blutüberimpfung auf empfängliche Tiere nachzuweisen.

Morphologie im Warmblüter-Organismus.

Im peripheren Blut der infizierten Tiere fanden sich die Erreger 1. intraglobulär in roten Blutkörperchen, besonders zu Beginn der Infektion; dabei finden sich Übergänge von vollständigem und teilweisem Einschluß bis zum bloßen Anhaften mit den Blepharoplasten; 2. frei im Plasma.

Im Menschenblut zeigt sich ein Dualismus der Parasiten folgender Art: a) Formen mit querovalem ganz am Hinterende liegenden Blepharoplasten, neben dem oft ein deutliches Basalkorn färberisch darstellbar ist. Der Hauptkern ist schmal länglich-oval. Die freie Geißel ist ziemlich kurz. (Männliche Form.) b) Der Blepharoplast, der am Hinterende liegt, ist rund und bedeutend kleiner als bei a. Der Kern ist rund und aufgelockert. Der Protoplasmakörper ist breiter als bei a. (Weibliche Form) [Tafel VI Fig. 28 und 29].

Endoglobuläre Parasiten kommen auch vor.

Im Blut von *Callithrix penicillata*. Die Überimpfung vom Menschen auf den Affen gelang leicht. Der Dimorphismus der Parasiten war hier noch deutlicher als beim Menschen und durch die Rosenbusch'sche Färbung ließen sich die Kernstrukturen sehr genau beobachten, die ähnliche Verhältnisse ergaben wie bei den echten Trypanosomen.

Im Meerschweinchen. Hier wurde der Entwicklungscyclus besonders genau studiert.

Es kommt zu einer ersten Entwicklung im Innern der roten Blutkörperchen, wobei schon der oben geschilderte Dimorphismus deutlich ist. — Bei den intraglobulären Formen fehlt häufig die Geißel. Später überwiegen die freien Formen, doch finden sich stets auch intraglobuläre. Niemals werden Zeichen einer Längsteilung wie bei anderen Trypanosomen gefunden. Dagegen fand sich eine Schizogonie in der Lunge. Diese findet man nicht immer zur gleichen Zeit der Infektion; am sichersten fand sie Chagas bei mit intraperitoneal mit Blut von anderen Meerschweinchen — die durch Conorrhinus infiziert waren — geimpften Tieren am 5. bis 6. Tag.

Die Schizogonie erfolgt in den Lungencapillaren. Der Vorgang ist ungefähr der folgende:

Die Parasiten verlieren Geißel und undulierende Membran, während der Kern nach dem Vorderende rückt. Die beiden Körperenden nähern sich und verschmelzen miteinander. Dabei zeigt der Blepharoplast ein verschiedenes Verhalten, einmal trennt er sich vor der Abrundung vom Parasiten, das andere Mal vereinigt er sich mit dem Kern; dadurch ist auch die Schizogonie in den späteren Stadien eine zweifache, indem sich einmal der Kern allein, das andere Mal Kern und Blepharoplast teilen. Bei der Schizogonie resultieren dann 8 Merozoiten, die in einer rundlichen von dünner Membran umgebenen Zone liegen. Der Dimorphismus der jungen

Merozoiten prägt sich folgendermaßen aus: 1. Formen mit rundem Kern, der ein kleines Caryosom und eine deutliche Kernsaftzone aufweist, wobei kein Blepharoplast gefunden wird. (Weibliche Formen.) [Tafel VI Fig. 30.] 2. Formen mit Kern von größerem Chromatingehalt, einem Caryosom, das größer als bei 1 ist. Hier sieht man fast immer den Blepharoplasten am dünnen Ende des Parasiten liegend und mit dem Kern durch ein Chromatinband verbunden. (Männliche Formen.)



Fig. 17. Von HARTMANN gefundene Schizogonie von *Schizotrypanum cruzi* in einer Endothelzelle der Meerschweinchenlunge. (Nach HARTMANN.)

Diese jungen Merozoiten dringen dann in die Blutkörperchen ein, in denen sie in gleicher Form nachgewiesen wurden, und wachsen darin zu Flagellaten heran.

Daß der Entwicklungscyclus aber noch komplizierter ist, geht daraus hervor, daß HARTMANN (59) eine ganz anders aussehende Schizogonie mit kalaazarähnlichen Formen in einer Endothelzelle der Lunge der Meerschweine gefunden hat, die CHAGAS nach HARTMANN's Angabe jetzt auch in der Herzmuskulatur und dem Gehirn des Menschen sah.

Die Entwicklung im Überträger.

Die Versuche wurden mit gezüchteten Larven von Conorrhinus angestellt, da sich in gefangenen erwachsenen Exemplaren stets Flagellaten fanden.

6 Stunden nach der Blutaufnahme traten die ersten Veränderungen an den Parasiten im Mitteldarme auf; sie verlieren Geißel und undulierende Membran. Dann runden sie sich ab und vermehren sich durch Längsteilung sehr schnell, so daß man große Haufen runder Formen sieht [Tafel VI Fig. 33]. Allmählich bildet sich dann der Geißelapparat aus. Man findet dabei manchmal birnförmig zugespitzte Formen.

Nach ca. 25 Stunden findet man die weiteren Entwicklungsformen im hinteren, cylindrischen Teil des Mitteldarmes, wo sie durch enorme Vermehrung äußerst zahlreich sind. Sie stellen sich als Flagellaten dar, bei denen der Crithidiatypus überwiegt [Tafel VI Fig. 32]. — Das Hinterende endet manchmal rund oder es ist lang zugespitzt. Die undulierende Membran ist meist gut ausgeprägt. Auch birnförmige und kugelige Flagellaten finden sich.

Die beschriebenen Formen beharrten unbestimmte Zeit im Darm.

Die Bedeutung anderer verschiedentlich gesehener kleiner rundlicher oder stäbchenförmiger Formen ist noch nicht aufgeklärt (die Bilder erinnern sehr an Pilze); CHAGAS hält sie für zum eigentlichen Entwicklungscyclus gehörig.

Zweimal wurden Flagellaten in der freien Leibeshöhle von gefangenen Conorrhinuswanzen gefunden und dreimal in den Speicheldrüsen Flagellaten, die als die auf die Wirbeltiere übertragbaren Formen angesprochen wurden. Der eine der betreffenden Conorrhinus hatte 12 Tage vorher infektiöses Affenblut gesogen. Die Flagellaten ähneln denen des Blutes und zeigen auch einen diesen ähnlichen Dimorphismus.

Die Übertragungsversuche ergaben:

1. Ein unbestimmter Prozentsatz von aus Wohnungen der infizierten Zone stammenden Conorrhinen war für Wirbeltiere infektiös.

2. Ein Teil der künstlich infizierten Conorrhinuslarven wurde nach 8—10 Tagen infektiös und blieb es für einen langen Zeitraum.

Durch Injektion von Darminhalt gefangener Conorrhinen und aus dem Mitteldarm künstlich infizierter Larven (nach dem 6. Tage) gelang die Infektion von Tieren.

Verlauf der Tierinfektionen.

Die Virulenz des Erregers im Tierversuch schwankte stark. Merkwürdigerweise nahm sie durch wiederholte Passagen durch empfängliche Tiere ab; so tötete der infektiöse Insektenstich Meerschweinchen in 5—10 Tagen, während sie bei Blutinjektion bis 2 Monate lebten. Blut von infizierten Menschen tötete Meerschweinchen gleichfalls meist in wenigen Tagen.

Die Erscheinungen bei den Tieren waren vor allem Lymphdrüsenschwellungen und Keratitis.

Kultur des Parasiten.

Die Kultur gelang leicht auf Novy-MacNeal'schem Agar.

Die Parasiten bildeten zunächst runde und birnförmige Formen, die sich stark vermehrten und zu Flagellaten umformten, die den Crithidiaformen aus der Wanze entsprachen. Betr. Übertragung auf weitere Generationen findet sich nur die Angabe „und die beiden ersten Überimpfungen gehen fast immer gut an". Einmal wurden in einer 10tägigen Kultur Trypanosomenformen gesehen.

Die Überimpfung von Kulturen auf Meerschweinchen war in mehreren Fällen erfolgreich.

Daß es sich hier nicht um ein gewöhnliches Trypanosoma handelt, geht aus der zweifellos sicheren Schizogonie hervor, es war daher völlig berechtigt für den Parasiten ein neues Genus aufzustellen.

Das genauere Studium der Klinik und vor allem auch die pathologische Anatomie wird ebenso wie die weiteren morphologischen und experimentellen Untersuchungen sicher manche der noch nicht eindeutigen Beobachtungen über diesen interessanten Parasiten aufklären.

Endotrypanum schaudinni (Mesnil und Brimont).

Brimont (116) fand beim Faultier *Choloepus didactylus* (Linné) in Französisch Guyana einen Parasiten spärlich im Blute im Innern der roten Blutkörper von

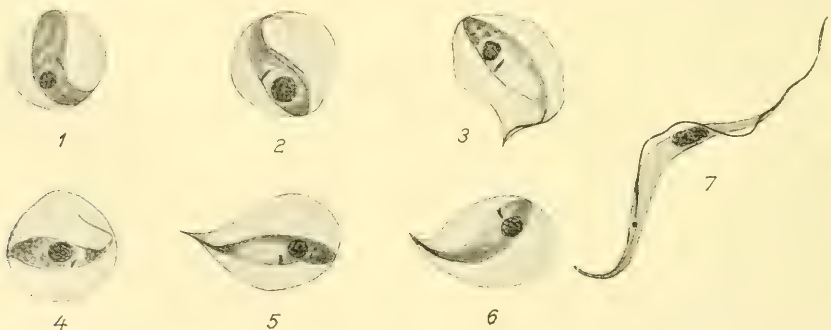


Fig. 18. *Endotrypanum schaudinni* und Trypanosom aus *Choloepus didactylus*. Nach Mesnil und Brimont.

8—11 μ zu 2,5—4 μ Größe, den Mesnil und er genauer beschrieben. Der Körper ist an einem Ende rundlich, am anderen zugespitzt. Das Protoplasma färbt sich

nach GIEMSA blauviolett. In der Mitte sieht man einen großen rundlichen und daneben einen kleinen, stabförmigen zweiten Kern. Das Blutkörperchen erscheint manchmal durch den Parasiten etwas ausgezogen. Einmal wurden 2 Parasiten in einem Blutkörper gesehen. Teilungsformen wurden nicht beobachtet.

Die Autoren halten sich nicht für berechtigt ein beim selben Wirt gefundenes freies Trypanosom von 36 μ Länge in Beziehung zu dem endoglobulären Parasiten zu setzen.

Für den Parasiten wurde ein neues Genus Endotrypanum geschaffen und die neue Species: *Endotrypanum schaudinni* benannt. [Textfig. 18.]

Zum Verhalten der Trypanosomen gegen chemotherapeutische Beeinflussung.

Es ist nicht möglich im Rahmen dieses Kapitels auf die medikamentöse Behandlung der Trypanosomiasen ausführlich einzugehen, vor allem auch nicht auf die glänzenden theoretischen Ergebnisse auf diesem Gebiete durch die Arbeiten PAUL EHRLICH's (48, 49); es sei auf die betreffenden klinischen Bücher und vor allem auf EHRLICH's Originalarbeiten und Kapitel in diesem Handbuche verwiesen.

Hier soll nur mit ein paar Worten auf die Ergebnisse und die theoretischen Gesichtspunkte der Chemotherapie kurz hingewiesen werden.

Es gibt gegen Trypanosomen wirksame Mittel z. B. außer verschiedenen Farbstoffen, vor allem Arsenikalien, dann Tartarus emeticus und Auripigment.

Daß Arsenik gegen Trypanosomiasis wirksam sei, ist schon lange bekannt. Bewußt hat es zuerst LINGARD gegen Surra angewandt. Seit der Empfehlung des Atoxyls durch THOMAS gegen Trypanosomiasis ist dies und seine Derivate von EHRLICH und seiner Schule eingehend studiert worden.[1])

Für die Chemotherapie der Trypanosomiasen wichtige Ergebnisse der Forschungen waren vor allem folgende:

Es ergab sich, „daß in dem Trypanosom bestimmte chemische Gruppierungen vorhanden sind, die zu bestimmten Arzneistoffen eine gewisse spezifische Verwandtschaft haben, die die Ursache der Verankerung und dadurch auch der arzneilichen Wirkung ist“.

Behandelt man Trypanosomeninfektionen mit zur völligen Heilung ungenügenden Dosen eines wirksamen Medikaments und wiederholt dies öfters bei den eintretenden Rezidiven, so verschwinden die Trypanosomen schließlich überhaupt nicht mehr unter dem Einfluß des Mittels, sie haben eine „Festigkeit“ dagegen erworben. Diese Festigkeit bleibt auch bei Überimpfung des Trypanosoms auf andere Tiere durch unzählige Generationen bestehen. Diese künstlich erzeugte Festigkeit ist nach EHRLICH darauf zurückzuführen, daß die Verwandtschaft der Rezeptoren zu den betreffenden Gruppierungen allmählich immer mehr bis zu einem bestimmten Minimum verringert wird. Auf diese Weise ist es gelungen gegen die verschiedensten Typen (Parafuchsin, Atoxyl, Trypanrot usw.) feste Stämme zu erhalten.

Von therapeutischem Gesichtspunkte ergaben sich daraus 2 Schlußfolgerungen, 1. die Anwendung der möglichst größten vom Wirtstier zu vertragenden Dosis = die „Therapia magna sterilisans“, 2. die gleichzeitige Einwirkung auf ver-

[1]) Auf theoretische Erörterungen über die Wirkungsweise des Atoxyls, über die von EHRLICH, UHLENHUTH und LEVADITI Theorien aufgestellt sind, kann hier nicht eingegangen werden.

schiedene ätiotrope Gruppen der Trypanosomen = die Kombinationstherapie.

Eine sehr interessante Frage, ob sich die einzelnen Chemozeptoren der Trypanosomen diffus über das ja aus verschiedenen Elementen zusammengesetzte Protoplasma der Trypanosomen verteilen, fand durch Zufall bei Experimenten eine interessante Beleuchtung.

Ehrlich fand bei Reagenzglasversuchen mit einem Arsenikal („Trypicid") gegenüber dem dagegen gefestigten Stamme, die merkwürdige Tatsache, daß Lösungen 1 : 500 den festen Stamm in 3—7 Minuten bewegungslos machten, während der gewöhnliche Stamm unter diesen Umständen bis zu 50 Minuten am Leben blieb. Im Tierversuch zeigte sich bei Vermischung der Trypanosomen mit stufenweisen Verdünnungen des Arsenikals und nachheriger Injektion das gegenteilige Verhalten, nämlich, daß der feste Stamm weit schwerer abgetötet wurde als der normale. Ehrlich schloß daraus eine Gruppierung des Zelleibes in 2 gleiche Teile:

1. Biologische Substrate, die mit der Beweglichkeit des Protoplasmas als solchem in Connex stehen. Diese Substrate zeigten eine ausgesprochene Überempfindlichkeit gegenüber dem verwendeten Arsenikal.

2. Substrate, die mit der Vermehrung der Parasiten in Zusammenhang stehen und unterempfindlich geworden waren.

Dieses distinkte Verhalten erhielt eine neue Beleuchtung, als bei der Behandlung eines Naganastammes mit orthochinoiden Substanzen (Pyronin und Oxazin) Werbitzki (193) Trypanosomen erhielt, deren Blepharoplast nicht mehr färberisch darstellbar war. Der Nachweis eines Centriols, der Geißelwurzel, gelang dabei v. Prowazek noch. Die Eigenschaft war auf viele Generationen vererbbar. Eine Beeinträchtigung der motorischen Funktion trat nicht ein. Wie der Vorgang zustande kam, konnte Werbitzki nicht erklären. Neuerdings fand Kudicke (76) Anhaltspunkte dafür, indem er mit einer anderen orthochinoiden Substanz, Akridin, bei *Trypanosoma lewisi*-Teilungsformen beobachtete, daß Teile des Blepharoplasten in der Richtung nach dem Hauptkern zu sich ablösten. Kudicke glaubt nicht, daß es etwa zur Einwanderung in den Hauptkern kommt, sondern, daß der betreffende Teil der Resorption anheimfällt.

Durch diese Beobachtungen wurde tatsächlich bewiesen, daß die Medikamente auf bestimmte Teile der Zelle einwirken können.

Literaturverzeichnis.

1. Achard et Aynaud, Les globulins dans les infections par les protozoaires. Compt. rend. soc. biol. 1909. Bd. 67. p. 213.
2. Baldrey, Versuche u. Beobachtungen über die Entwicklung von *Trypanosoma lewisi* usw. Arch. f. Protistenkunde. 1909. Bd. 15. S. 326.
3. Derselbe, Transmission of Surra. Journ. of trop. Vet. Science. V. 1910. p. 595.
4. Balfour, Trypanosomiasis in the anglo-egyptian Sudan. II. Report. Wellcome Research Laborat. Khartoum. 1906. p. 113.
5. Beck, Max, Exp. Beitr. zur Infektion mit *Trypanosoma gambiense* usw. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. XXXIV. 1910. S. 318.
6. Becker, Ältester geschichtl. Beleg für die afrikan. Schlafkrankheit. Der Islam. Bd. 1. 1910. S. 197.

7. Behn, Infektion eines Kalbes mit *Trypanosoma theileri* usw. Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1910. Nr. 50.

7a. Bentmann u. Günther, Beitr. zur Kenntnis des *Trypanosoma gambiense*. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. XI. 1907. Beih. 2.

8. Bericht über die z. Erforsch. der Schlafkrankheit ... Kommission. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. XXXI. 1909. S. 1.

9. Bevan, Notes concerning *Trypanosoma dimorphon*. The veterin. Journal. 1910. p. 12.

10. Bouet et Roubaud, Expériences diverses de transmission des Trypanosomes par les Glossines. Ann. Pasteur. XXIV. 1910. p. 658.

11. Dieselben, Expér. diverses de Transmission des Trypanosomes III. Transm. de T. pecaudi. Bull. Soc. pathol. éxotique. III. 1910. p. 599.

12. Bouffard, Le rôle enzootique de la *Glossina palpalis* dans la souma. Bull. Soc. Pathol. éxot. II. 1909. p. 599.

13. Derselbe, *Glossina palpalis* et *Trypanosoma cazalboui*. Ann. Inst. Past. XXIV. 1910. p. 276.

14. Bordier et Horand, Action des rayons ultraviolets sur les trypanosomes. C. rend. Acad. scienc. 1910. p. 634 et 886.

15. Braun u. Lühe, Leitfaden zur Unters. d. tierischen Parasiten. Würzburg. 1909.

16. Breinl and Hindle, Observations on the life history of *Trypanosoma lewisi* in the rat louse. Ann. of Trop. Medec. and Parasitol. Bd. 3. 1910. p. 553.

17. Broden, Les infections à trypanosomes au Cong. Bull. de la Soc. d'Etudes colon. Febr. 1904.

18. Bruce, Hamerton and Bateman, A trypanosome from Zansibar. Proc. Roy. Soc. B. 81. 1909. p. 14.

19. Bruce, Hamerton, Bateman and Mackie, Trypanosoma diseases of domestic animals in Uganda. I. *Trypanosoma pecorum*. Proc. Roy. Soc. B. 82. 1910. p. 468.

20. Dieselben, Experiments to ascertain if çertain Tabanideae act as carriers of *Trypanosoma pecorum*. Proc. Roy. Soc. B. 83. 1911. p. 349.

21. Dieselben, *Glossina palpalis* as a carries of *Trypanosoma vivax* in Uganda. Proc. Roy. Soc. 1909. Dez. 20. p. 63.

22. Dieselben, Trypanosoma diseases of domestic animals in Uganda. III. *Trypanosoma vivax*. Proc. Roy. Soc. B. 83. p. 15.

23. Dieselben, The Development of trypanosomes in tsetse flies. Proc. Roy. Soc. B. 83. 1910. p. 368.

24. Dieselben, Trypanosoma diseases of domestic animals in Uganda. V. *Trypanosoma nanum*. Proc. Roy. Soc. B. 83. 1911. p. 180.

25. Dieselben, Trypanosoma diseases of domestic animals in Uganda. IV. *Trypanosoma uniforme*. Proc. Roy. Soc. B. 83. 1911. p. 176.

26. Dieselben, Experim. to ascertain if cattle may act as a reservoir of *Trypanosoma gambiense*. Proc. Roy. Soc. B. 82. 1910. p. 480.

27. Dieselben, Mechanical transmission of sleeping sickness by the tsetse fly. Proc. Roy. Soc. B. 558. 1910. p. 498.

28. Dieselben, Sleep. sickness in Uganda. — Duration of the infectivity etc. Proc. Roy. Soc. B. 82. 1909. p. 56.

29. Dieselben, The development of trypanosomes etc. Proc. Roy. Soc. B. 82. 1910. p. 379.

30. Dieselben, *Trypanosoma ingens*. Proc. Roy. Soc. B. 549. 1909. p. 323.

31. Dieselben, The development of *Trypanosoma gambiense* in *Glossina palpalis*. Proc. Roy. Soc. B. 81. 1909. p. 405.

32. Bruce, Nabarro and Greig, Further rep. on Sleep. sickness in Uganda. Rep. III sleep. sickn. commiss. 1903.

33. Busck u. Tappeiner, Über Lichtbehandlung blutparasitärer Krankheiten. Deutsch. Arch. f. klin. Medizin. Bd. 87. 1906. S. 98.

34. Cardamatis et Photinos, Trypanosomes dans le sang des bovidés en Grèce. Bull. Soc. Pathol. exot. IV. 1911. p. 377.

35. Carini, Stades endoglobulaires des trypanosomes. Ann. Inst. Pasteur. XXIV. 1910. p. 143.

36. Cazalbou, Les trypanosomiases au Soudan français. Rec. de méd. véter. 1904.

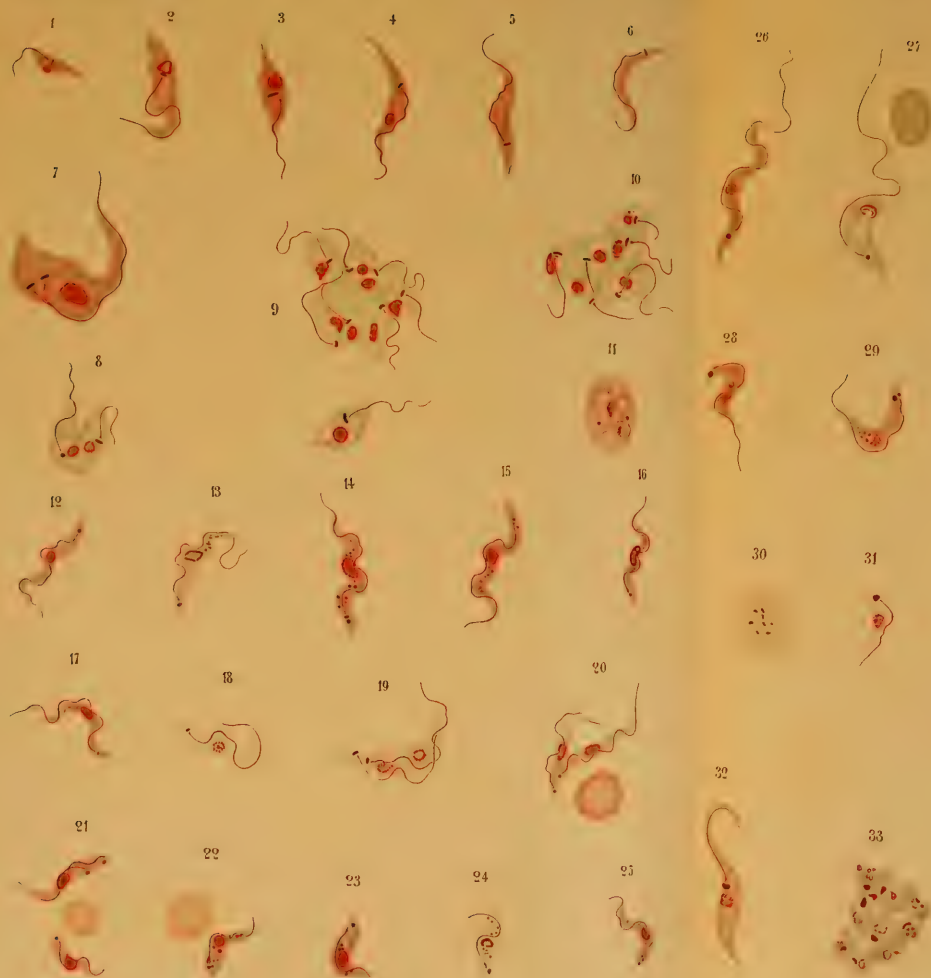
37. Chagas, Neue Trypanosomen. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. XIII. 1909. S. 120.
38. Derselbe, Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen usw. Memor. do Instit. Oswaldo Cruz. I. 1909. S. 159.
39. Crawley, *Trypanosoma americanum* etc. Bureau of animal Industry Bullet. 119. 1909. p. 21.
40. Darling, Equine trypanosomiasis in the Canal zone. Bull. soc. Pathol. exot. III. 1910. p. 381.
41. Derselbe, Murrina a trypanosomal disease. Journ. of infect. dis. VIII. 1911. p. 467.
42. Delanoë, Sur la réceptivité de la souris au *Trypanosoma lewisi*. C. r. soc. biol. LXX. 1911. S. 649.
43. Derselbe, Présence de trypanosomes chez les bovidés en France. Bull. Soc. Pathol. exot. IV. 1911. p. 112.
44. Diesing, Ein Immunisierungsversuch gegen die Tsetsekrankheit der Rinder. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. IX. 1905. S. 427.
45. Durham, Notes on Nagana etc. Parasitology. I. 1908. p. 227.
46. Düring, Studien über Agglomeration und Immunität bei *Tr. lewisi*. Inaug.-Dissert. Bern 1908.
47. Dutton and Todd, First report of the Trypanosomiasis Expedition to Senegambia. London 1903.
48. Ehrlich, Paul. Beitr. z. exp. Pathologie und Therapie. Leipzig 1909.
49. Derselbe, Über die neuesten Ergebnisse auf dem Gebiet der Trypanosomenforschung. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. XIII. 1909. Beiheft 6.
50. Elmassian et Migone, Sur le Mal de Caderas. Ann. Inst. Pasteur. XVII. 1903. p. 241 et XVIII. 1904. p. 587.
51. Dieselben, siehe Migone.
52. Fellmer, Stoffwechseluntersuchungen bei mit Nagana-Tryp. infiz. Kaninchen. Zeitschr. f. Immunitätsforschung. 1909. S. 474.
53. Frank, Über den Befund von Trypanosomen usw. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. der Haustiere. V. 1909. S. 303.
54. Fraser and Symonds, Surra in the federated Malay States. Stud. fr. the Instit. f. Med. Research Fed. Malay States. No. 9. 1908.
55. Gaiger, Further observations on trypanosomiasis. Journ. of tropic. Vet. Science. VI. 1911. p. 21.
56. Goebel, O., Le Nagana chez la poule. Arch. f. Schiffs- u. Tropenkr. Bd. XII. 1908. p. 511.
57. Gray and Tulloch, Continuation report on sleep. sickness in Uganda. Rep. VIII of the sleep. sickn. Commiss. 1907. p. 64.
58. Dieselben, The multiplication of *Tryp. gamb.* in the alimentary canal of *Glossina palpalis*. Rep. VI of the sleep. sickn. commiss. 1905.
59. Hartmann, Notiz über eine weitere Art der Schizogonie bei *Schizotrypanum cruzi*. Arch. f. Protistenkunde. XX. 1910. S. 361.
60. Hartoch u. Yakimoff, Beobachtungen über Complementschwund bei experimentellen Trypanosomenerkrankungen. Wiener klin. Woch. XXI. 1908. S. 1376.
61. Hindle, Degenerative Phenomens of *Tryp. gamb.* Parasitology. III. 1910. p. 423.
62. Derselbe, The life history of *Trypanosoma dimorphon*. Refer. Sleep. sickn. Bulletin. II. 1910. p. 101.
63. Höhnel, Über *Trypanosoma congolense*. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. XII. 108. Beih. 3.
64. Keysselitz u. M. Mayer, Zur Frage der Entwicklung von *Trypanosoma brucei* in *Glossina fusca*. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. XII. 1908. S. 532.
65. Kleine, Positive Infektionsversuche mit *Tryp. bucei* durch *Glossina palpalis*. D. med. Wochenschr. XXXV. 1909. S. 469.
66. Derselbe, Weitere wissenschaftliche Beobachtungen über die Entwicklung von Trypanosomen. D. med. Wochenschr. XXXV. 1909. S. 924.
67. — u. Möllers, Ein für *Tryp. brucei* spez. Serum usw. Zeitschr. f. Hyg. u. Infkr. Bd. 52. 1905. S. 229.
68. — u. Taute, Trypanosomenstudien. Arb. kais. Ges.-Amt. XXXI. 1911.

69. Klein, E., Report to the local Govern. Board on a disease in ship rats due to trypanosomata. London 1909.
70. Knuth u. Rauchbar, Weitere Nachforschungen nach Trypanosomen usw. Zeitschr. f. Infkr. der Haustiere. VIII. 1910. S. 139.
71. Dieselben, Zum Vorkommen von Tryp. bei Rindern in Deutschland. Berliner tierärztl. Wochenschr. 1910. N. 31.
72. Koch, R., Reiseberichte. Berlin 1898.
73. Derselbe, Ein Versuch zur Immunisierung von Rindern gegen Tsetsekrankheit. Beibl. d. Deutsch. Kolonialblattes. 15. Dez. 1901.
74. Derselbe, Vorläufige Mitteilungen über die Ergebnisse einer Forschungsreise usw. D. med. Wochenschr. XXXI. 1905. S. 1865.
75. Kudicke, Zur Ätiologie der Schlafkrankheit. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. XII. 1908. S. 36.
76. Derselbe, Die Wirkung orthochinoider Substanzen auf Rattentrypanosomen. C. f. Bakt. I. Orig. Bd. 59. 1911. S. 182.
77. Laveran, Contribution à l'étude de „*Trypanosoma hippicum*" Darling. Bull. Soc. Pathol. Exot. IV. 1911. p. 169.
78. Derselbe, Sur un nouveau trypanosome des bovidés. C. r. Acad. Science. 1902. Bd. 134. p. 512.
79. Derselbe, Au sujet de deux trypanosomes de bovidés du Transvaal. Ibid. 1902. Bd. 135. 5. Nov.
80. Derselbe, Au sujet de *Trypanosoma congolense*. Bull. soc. pathol. exot. II. 1909. p. 526.
81. Derselbe, Sur les trypanosomiases du Haut-Niger. Ann. Inst. Pasteur. XXI. 1907. p. 320.
82. Derselbe, Note pour servir à l'histoire des trypanosomiases du Soudan anglo-égyptien. C. r. soc. Biol. 58. 1905. p. 292.
83. Derselbe, Resistance des chèvres et des moutons aux trypanosomiases etc. C. r. Acad. sciences. 1911. p. 63.
84. Derselbe, Contribution à l'étude de *Trypanosoma congolense*. Ann. Pasteur. XXII. p. 833.
85. Laveran et Mesnil, Recherches sur le traitement et la prévention du Nagana. Ann. Pasteur. XVI. 1902. p. 785.
86. Dieselben, Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris 1904.
87. Laveran et Pettit, Des trypanotoxins. Bullet. soc. Path. exot. IV. 1911. p. 42.
88. Dieselben, La virulence des trypanosomes des mammifères peut-elle être modifiée après passage par des Vertébrés à sang froid? C. r. Acad. scienc. Bd. 149. 1909. p. 329.
89. Leber, Über Trypanosomentoxine und trypanotoxische Keratitis parenchymatosa. Deutsch. med. Wochenschr. 1908. Bd. XXXIV. S. 1850.
90. Leger et Ringenbach, Sur la spécifité de la propriété trypanolytique des sérums des animaux trypanosomiés. C. r. soc. biol. Bd. 70. 1911. N. 9. p. 343.
91. Levaditi et Mc Intosh, Mécanisme de la création de races de trypanosomes résistantes aux anticorps. Bull. soc. Pathol. exot. III 1910. p. 368.
92. — et Muttermilch, Le mécanisme de la création des variétés de trypanosomes résistant aux anticorps. C. r. soc. biol. Bd. 67. 1909. p. 49.
93. Dieselben, Diagnostic des trypanosomiases par le phénomène de l'attachement. C. r. soc. biol. LXIX. 1910. p. 635.
94. Dieselben, Mécanisme de la Phagocytose. C. r. soc. biol. 1910. LXVIII. p. 1079.
95. Levaditi et Twort, Sur la Trypanotoxine du *Bacillus subtilis* etc. C. r. soc. biol. LXX. 1911. p. 645.
96. — et Yamanouchi, La réaction des lipoides dans les trypanosomiases et les spirilloses éxperimentales. Bullet. de la Soc. pathol. exot. I. 1908. p. 140.
97. Lingard, New species of trypanos. found in the blood of rats etc. Journ. of trop. veter. science. I. 1906. p. 5.
98. Derselbe, Different species of trypanosomata etc. Journ. of trop. vet. science. II. 1907. p. 4.
99. Derselbe, The giant Trypanosome etc. Centralbl. f. Bact. I. XXXV. 1904. S. 253.
100. Derselbe, Through what agency is the Tryp. evansi carried over etc. Journ. of trop vet. science. I. 1906. p. 1.
101. Derselbe, Report on Dourine etc. Government Printing Calcutta. 1905.

102. Lingard, The trypanosome of Dourine and its life history. C. f. Bact. I. 37. 1904. S. 537.
103. Löwenstein, E., Zur Pathologie und Therapie der Mäusenagana. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 63. 1909. S. 416.
104. Loewenthal u. Rutkowsky, Die Wirkung von Röntgen- und Radiumstrahlen auf *Trypanosoma lewisi.* Therapie d. Gegenwart. 1907. Bd. 48. S. 393.
105. Lühe, Die im Blute schmarotzenden Protozoen. Mense, Handbuch der Tropenkrankheiten. Leipzig 1906. Bd. III.
105a. Luhs, *Trypanosoma theileri* in Transkaukasien. Arch. de Parasitol. X. 1905. S. 171.
106. Manceaux et Yakimoff, Culture et Morphol. du tryp. du type theileri des boeufs tunisiens. Bull. Soc. Pathol. exot. IV. 1911. p. 378.
107. Manteufel, Untersuchungen über spezifische Agglomeration und Komplementbindung bei Trypanosomen und Spirochäten. Arb. a. d. kais. Ges.-Amt. Bd. 28. 1908. S. 172.
108. Derselbe, Studien über die Trypanosomiasis der Ratten usw. Arb. a. d. kais. Ges.-Amt. XXXIII. 1909. S. 46.
109. Martin u. Ringenbach, Penetration de *Tryp. gamb.* à travers les teguments etc. Bull. Soc. Pathol. exot. III. 1910. p. 433.
110. Martini, The development of a piroplasm and Trypanosoma of cattle etc. Philippine Journ. of Science IV (Med. Sc.). 1909. p. 147.
111. Derselbe, Untersuchungen über die Tsetsekrankheit zwecks Immunisierung von Haustieren. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 50. 1905. S. 1.
112. Mayer, Martin, Über *Trypanosoma theileri* etc. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten d. Haustiere. VI. 1909. S. 46.
113. Derselbe, Experim. Beiträge zur Trypanosomeninfektion. Zeitschr. f. exper. Pathologie u. Therapie. Bd. 1. 1905. S. 539.
114. McNeal and Novy, On the Cultivation of *Tr. lewisi.* Contributions to Medic. Research; Festschrift für Vaughan. Ann. Arbor. 1903.
115. Mesnil, Sur l'identification de quelques Tryp. pathogen. Bull. soc. pathol. exot. III. 1910. p. 380.
116. — et Brimont, Sur un hématozoaire nouveau d'un Edenté. C. r. soc. biol. LXV. 1908. p. 581.
117. Dieselben, Sur les propriétés protectrices du serum des animaux trypanosomiés. Ann. Pasteur. XXIII. 1909. p. 129.
118. Dieselben, Sur les propriétés préventives du serum des animaux trypanosomiés. C. r. soc. biol. Bd. 65. 1908. p. 77.
119. Mesnil et Martin, Sur la réceptivité des oiseaux aux trypanosomes pathogènes pour les mammifères. C. r. soc. biol. LX. 1906. p. 739.
120. Migone, Le rôle des Carpinchos comme reservoir de virus dans la conserv. du Mal de Caderas. Bull. Soc. Path. exot. III. 1910. p. 524.
121. Minchin, The structure of *Tryp. lewisi* etc. Quarterl. Journ. of microsc. science. N. S. 53. 1909.
122. — and Thomson, The transmissions of *Tryp. lewisi* by the rat flea. Proc. Roy. Soc. Bd. LXXXII. 1910. p. 273.
123. Dieselben, The transmission of *Trypanosoma lewisi* by the rat flea. Brit. med. Journ. 1911. p. 1309.
124. Miyajima, On the cultivation of a bovine piroplasma. Philippine Journ. of science II med. Sc. 1907. p. 83.
125. Montgomery and Kinghorn, On the Nomenclature of the mammalian trypanosomes observed in NW. Rhodesia. Ann. of trop. Med. and Parasitol. II. 1909. p. 333.
126. Morax, Manifestations oculaires au cours des Trypanosomiases. Ann. Pasteur. XXI. 1907. p. 47.
127. Mott, The microscopic changes in the nervous system in a case of chronic Dourine etc. Proc. Roy. Soc. B. Bd. 88. 1906. p. 1.
128. Derselbe, Histolog. observations on sleeping sickness etc. Report sleep. sickness Commission of the Roy. Soc. VII. 1906.
129. Nierenstein, Observations on the acidity and alkalinity of the blood in Trypanosome infections. Annales of trop. Med. et Parasitol. II. 1908/9. p. 227.

130. Nissle, Beobachtungen am Blut mit Trypanosomen geimpfter Tiere. Arch. f. Hyg. LIII. 1905. S. 181.
131. Nobele et Goebel, Essais de radiothérapie dans les trypanosomiases expérimentales. Annales de la soc. de Médecine de Gand. Bd. 86. 1906. p. 52.
132. Nocht u. M. Mayer, Trypanosomen als Krankheitserreger. Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. Erg.-Bd. I. 1906.
133. Novy et McNeal, On the cultivation of *Trypanosoma brucei*. Journ. of infect. diseases. I. 1904. p. 1.
134. Novy, McNeal et Hare, The cultivation of the Surra Trypanosome of the Philippines. Journ. Americ. Med. Assoc. XLII. 1904. p. 1413.
135. Nuttal, The transmission of *Trypanosoma lewisi* by fleas and lice. Parasitology. I. 1908. p. 296.
136. Ochmann, Trypanosomiasis beim Schweine. Berliner tierärztl. Wochenschrift. XI. 1905. S. 337.
137. Ohkubo, Action trypanocide et spirillocide de la pyocyanase. C. r. soc. biol. LXVIII. 1910. p. 655.
138. Peter, Otto, Morphol. et experiment. Studien über ein neues, bei Rindern in Uruguay gefundenes Trypanosom. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Beih. zu XIV. 1910. p. 261.
139. Petrie et Avari, On the seasonal prevalence of *Trypanosoma lewisi* etc. Parasitology. II. 1909. p. 305.
140. Plimmer and Bradford, Further observ. on the effects produced on rats by Tryp. of Gambia fever etc. Proc. Roy. Soc. B. 79. 1906. p. 95.
141. Dieselben, Vorl. Notiz über die Morphologie u. Verbreitung der bei der Tsetsekrankheit gefundenen Parasiten. C. f. Bakteriol. 0I. XXVI. 1899. S. 440.
142. Prowazek, v., Studien über Säugetiertrypanosomen. Arb. a. d. Kais. Ges. Amt XXII. 1905. S. 351.
143. Derselbe, Studien über Säugetiertrypanosomen. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt XXII. 1905. Heft 2.
144. Rabinowitsch, L. u. Kempner, Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten, speziell der Rattentrypanosomen. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 30. 1899. S. 251.
145. Robertson, Notes on certain blood inhabiting Protozoa. Proc. Roy. Physic. Soc. Edinburg. XVI. 1906. p. 232.
146. Rodenwaldt, *Trypanosoma lewisi* in Haematopinus spinulosus. C. f. Bakter. I. 0. Bd. 52. 1909. S. 30.
147. Rogers, The transmission of the *Trypanosoma evansi* by horse-flies. Proc. Roy. Soc. B. 68. 1901. p. 163.
148. Rosenbusch, Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenkunde 15. 1909. S. 263.
149. Roudsky, Sur l'inoculation de culture de *Trypanosoma lewisi* au rat blanc etc. C. r. soc. biol. Bd. 68. 1910. p. 421.
150. Derselbe, Sur la réceptivité de la souris blanche a *Trypanosoma lewisi*. C. r. soc. biol. Bd. 68. 1910. p. 458.
151. Derselbe, Sur le *Trypanosoma lewisi* Kent. renforcé. C. r. soc. biol. Bd. 69. 1910. S. 384.
152. Derselbe, Action pathogène de *Trypanosoma lewisi* Kent. renforcé sur la souris blanche. C. r. soc. biol. LXX. 1911. p. 741.
153. Rouget, Contrib à l'étude du Trypanosome des mammifères. Ann. Inst. Pasteur. X. 1896. p. 716.
154. Salvin-Moore et Breinl, The cytology of the trypanosomes. Ann. of trop. Med. and Parasitol. I. 1907. p. 441.
155. Dieselben, The life history of *Trypanosoma equiperdum*. Proc. Roy. Soc. B. 80. 1908. p. 288.
156. Salvin-Moore, Breinl et Hindle, The life history of *Trypanosoma lewisi*. Ann. of trop. Med. et Parasitol. Bd. II. 1909. p. 197.
157. Schat, Beiträge zu denUnters. über *Trypanosoma evansi* usw. Inaug.-Dissertat. Bern 1909.
158. Schein, Haematozoa of bovidae in Indochina. Journ. of trop. vet. science. III. 1908. p. 202.
159. Derselbe, Prophylaxie du Surra en Indochine. Bull. Soc. Pathol. exotique. IV. 1911. p. 56.

160. Schilling, Claus, Über die Tsetsekrankheit oder Nagana. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. XXI. 1904. S. 476.
161. Derselbe, Autogamie bei *Trypanosoma lewisi*. Arch. f. Protistenkunde. XIX. 1910.
162. Schneider et Bouffard, La dourine et son parasite. Rec. med. vet. 1900. Dez.
163. Schoenebeck, Beobachtungen eines anscheinend pathogenen zur Gruppe des *Trypanosoma theileri* gehörigen Trypanosoms usw. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. XIV. 1910. S. 548.
164. Schuberg u. Kuhn, Über die Übertragung von Krankheiten durch einheim. Stechfliegen. Deutsche Militärärztl. Zeitschr. 1909.
165. Sergent, Ed et Et., Présence de trypanosomes chez les bovidés en Algérie. Bull. Soc. Pathol. exot. IV. 1911. p. 40.
166. Sieber u. Gonder, Übertragung von *Trypanosoma equiperdum*. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. XII. 1908. S. 646.
167. Siebert, W., Studien über Spirochäten u. Trypanosomen. Arch. f. Protistenkunde. Bd. XI. 1908. S. 363.
168. Sivori et Lecler, Le Surra americain ou Mal de caderas. Ann. d. Minist. d. Agricult. Buenos Ayres. I. 1902.
169. Dieselben, Surra americain ou Mal de caderas. Referat im Zentralbl. f. allg. Pathologie. XIII. 1902. p. 964.
170. Sowerby, Some experiments in Trypanosomiasis, an Endeavour to discover the Reservoir of *Trypanosoma evansi*. Journ. of trop. Vet. science. V. 1910. p. 584.
171. Spielmeyer, Experimentelle Tabes bei Hunden (Trypanosomentabes). Münch. med. Wochenschr. Bd. 53. 1906. S. 2338.
172. Derselbe, Die Trypanosomenkrankheiten u. ihre Beziehungen zu den syphilogenen Nervenkrankheiten. Jena, G. Fischer. 1908.
173. Stephens and Fantham, On the peculiar morphology of a Trypanosoma etc. Ann. of trop. Med. et Parasitol. IV. 1911. p. 343.
174. Stockmann, Preliminary note on a trypanosoma of British cattle. Journ. of comparat. Pathol. et Therapeutics. 1910. p. 189.
175. Strickland, On the supposed. development of *Trypanosoma lewisi* in lice and fleas etc. Parasitology. II. 1909. p. 81.
176. Derselbe, The mechanism of transmission of *Trypanosoma lewisi* from rat to rat by the rat flea. Brit. Med. Journal. 1911. p. 1049.
177. Strickland and Swellengrebel, Notes on *Trypanosoma lewisi* and its relation to certain Arthropoda. Parasitology. III. 1910. p. 436.
178. Stuhlmann, Beiträge zur Kenntnis der Tsetsefliege. Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. XXVI. 1907. S. 301.
179. Swellengrebel and Strickland, The development of *Trypanosoma lewisi* outside the vertebrate host. Parasitology. Bd. 3. 1910. p. 360.
180. Swellengrebel, Normal and abnormal morphology of *Trypanosoma lewisi*, in the blood of the rat. Parasitology. Bd. 3. 1910. p. 459.
181. Derselbe, La volutine chez les trypanosomes. C. r. soc. biol. 64. 1908. p. 38.
182. Derselbe, Fixation and staining of *Trypanosoma lewisi*. Parasitology. III. 1910. p. 226.
183. Swingle, The transmission of *Trypanosoma lewisi* by rat flea etc. Journ. of infect. diseases. VIII. 1911. p. 125.
184. Theiler, Sur l'existence de *Trypanosoma dimorphon* ou d'une espèce voisine au Mozambique et au Zululand. Bullet. Soc. path. exot. II. 1909. p. 39.
185. Derselbe, A new trypanosome an the disease caused by it. Journ. of comp. pathol. and therap. XVI. 1903. p. 193.
186. Tobey, The cytology and life-history of trypanosomes. Journ. of Med. research. XXII. 1910. p. 379.
187. Warrington, Yorke, Auto-Agglutination of red blood cells in Trypanosomiasis Proceed. Roy. Soc. Bd. 562. 1911. p. 238.
188. Derselbe, On the Pathogenicity of a tryp. (Fr. rhodesiense) etc. Ann. of trop. Med. and Parasit. IV. 1911. p. 351.
189. Wasielewsky u. Senn, Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten des Rattenblutes. Zeitschr. f. Hyg. u. Infk. Bd. 33. 1900. S. 444.



Lit. Tacchinardi e Ferrari - Pavia

Verlag von Johann Ambrosius Barth. Leipzig

190. Wendelstadt u. Fellmer, Einwirkung von Kaltblüterpassagen auf Nagana- u. Lewisi. trypanosomen. Zeitschr. f. Immunit.-Forschung. Bd. III. 1909. S. 422.
191. Dieselben, Einwirkung von Kaltblüterpassagen auf Nagana- u. Lewisi-Trypanosomen. Zeitschr. f. Immunit.-Forschung. B. V. 1910. S. 337.
192. Weissenborn, Beitrag zur Kenntnis der kurzgeißeligen Trypanosomen. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. XV. 1911. S. 477.
193. Werbitzki, Über blepharoplastlose Trypanosomen. C. f. Bakt. I. O. LIII. 1910. S. 303.
194. Wrublewski, Ein Tryp. des Wisent von Bielowesch. C. f. Bakt. O. XLVIII. 1909. S. 162.
195. Yakimoff, Contribution aux altérations du sang des animaux atteints de trypanosomiases expérimentales. Arch. des sciences biol. (St. Petersburg). Bd. XIII. 1908. p. 34. (Ref. Sleep. sickn. Bull. Bd. I. p. 149.)
196. Yakimoff et Kohl, De la vitalité des trypanosomes dans les cadavres. Arch. de sciences biol. (St. Petersburg). Bd. XII. 1907. p. 351. Ref. Sleep. sickn. Bull. Bd. I. S. 260.)
197. Dieselben, Zur Infektionsmöglichkeit der Hühner mit Dourinetrypanosomen. C. f. Bakteriol. I. XLVII. 1908. S. 483.
198. Ziemann, Beitr. zur Trypanosomenfrage. C. f. Bakt. I. Orig. Bd. 35. 1905. S. 317.
199. Derselbe, Tsetsekrankheit in Togo. Berliner Klin. Wochenschr. 39. 1902. S. 930.
200. Zwick u. Fischer, Untersuchungen über die Beschälseuche. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. 36. 1911. S. 1.

Tafelerklärung.

Tafel VI.

Die Figuren sind mit Apochrom 2 mm, Comp. Ocular 8 in Objekttischhöhe gezeichnet — Giemsa-Färbung (*H. Sikora pinx*).

Fig. 1—11 *Trypanosoma lewisi.*
1— 3 kleine und große Crithidienformen aus dem Blut bei frischer Infektion.
4— 5 gewöhnliche Formen.
6 hauptkernlose Formen.
7— 8 beginnende Teilung.
9—10 multiple Teilungen.
11 endoglobuläre Parasiten (nach Orig.-Präp. von Dr. Carini).

Fig. 12 *Trypanosoma gambiense* in Menschenblut.

Fig. 13 *Trypanosoma gambiense* in Mausblut.

Fig. 14—16 *Trypanosoma hippicum* (nach Orig.-Präp. von Dr. Darling).

Fig. 17—20 *Trypanosoma equinum.*
17 sog. männliche Form.
18 sog. weibliche Form.
19 Teilungsform.
20 Parasiten mit deutlichem Blepharoplast.

Fig. 21 *Trypanosoma congolense.*

Fig. 22—25 *Trypanosoma frobeniusi.* Verschiedene Formen.

Fig. 26—27 *Trypanosoma theileri* (männliche und weibliche Form).

Fig. 28—33 *Schizotrypanum cruzi* (nach Orig.-Präp. von Dr. Chagas).
28 im peripheren Blut des Menschen.
29 im peripheren Blut des Meerschweins.
30 Schizogonie aus Lunge des Meerschweins.
31 Form aus Larve von Conorrhinus (12 Stunden).
32 Form aus Larve von Conorrhinus (18 Tage).
33 Schizogonie aus Larve von Conorrhinus (30 Tage).

Cnidosporidien

(Myxo- und Microsporidien).

Von

Olaw Schröder.

(Hierzu Textfiguren 1—30.)

Ordnung *Cnidosporidia* Doflein.

(*Myxosporidia* + *Microsporidia* + *Actinomyxidia*.)

Die unter dem Namen *Cnidosporidia* vereinigten Sporozoen besitzen eine Anzahl gemeinsamer Merkmale, die ihre engere Zusammenfassung und ihre Abgrenzung gegen die anderen Sporozoen rechtfertigt. Die gemeinsamen Merkmale finden sich sowohl bei den vegetativen Stadien, als auch besonders in der Art der Sporenbildung.

Die vegetativen Stadien sind amöbenähnliche, im erwachsenen Zustande mehrkernige Organismen, die in Körperhohlräumen oder im Gewebe ihrer Wirte schmarotzen. Ihr Aussehen legt es nahe, die Cnidosporidien von amöbenartigen Vorfahren abzuleiten. Nach längerer oder kürzerer Zeit und nachdem eine ungeschlechtliche Vermehrung durch Teilung oder Knospung stattgefunden hat, schreiten diese Stadien zur Sporenbildung. Diese vollzieht sich bei den einzelnen Gruppen und Arten in etwas verschiedener Weise. Ein für alle Cnidosporidien gemeinsames Merkmal ist jedoch, daß die Sporen, wie ihre Entwicklungsgeschichte verrät, mehrzellige Gebilde sind.

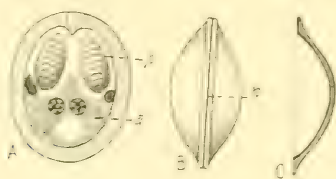


Fig. 1.

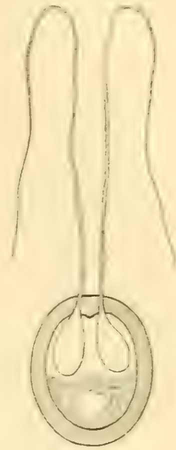


Fig. 2.

Fig. 1. Spore einer *Myxobolus*-Art. A von der Fläche, B von der Kante gesehen; C einzelne Sporenklappe. a = Amöboidkeim, p = Polkapsel, n = Schalennaht.

Fig. 2. Ein Sporenende von *Sphaeromyxa sabrazesi* mit Polkapsel (nach Schröder).

Bei den Myxosporidien und Microsporidien enthält jede Spore stets nur einen Keim. Umhüllt sind die Sporen von einer resistenten Schale, die bei den Myxosporidien, und wahrscheinlich auch bei den Microsporidien, aus zwei, bei den Actinomyxidien aus drei Schalenklappen gebildet wird (siehe Fig. 1). Außer dem eigentlichen Keim enthält die Spore eine oder wenige Polkapseln, in welchen ein hohler Faden aufgerollt ist, so daß die Gebilde den Nesselkapseln der Cölenteraten sehr gleichen (Fig. 2). Die Polfäden werden durch die Einwirkung der Darmsäfte der Wirtstiere zum Ausschnellen gebracht (Fig. 3). Schalenklappen sowie Polkapseln sind Umwandlungsprodukte besonderer Zellen der Sporoblasten.


Fig. 3. Spore einer *Myxobolus*-Art mit ausgeschnellten Polfäden.

Während der Ausbildung der Sporen vermögen manche Arten noch zu wachsen und immer neue Sporen zu bilden, die man dann auf verschiedenen Entwicklungsstadien nebeneinander im gleichen Individuum findet. Die Ausbildung der Sporen bedingt daher nicht immer das Ende des vegetativen Individuums. In den meisten Fällen dagegen beendigt die Entwicklung der Sporen, in ähnlicher Weise wie bei den übrigen Sporozoen, einen Abschnitt des Entwicklungskreises des Parasiten.

In Folgendem sollen nur die beiden Unterordnungen der *Myxo*- und *Microsporidia* berücksichtigt werden.

Myxosporidia Bütschli.

Definition: Cnidosporidien mit zweiklappigen Sporen, die paarweise, selten einzeln, meist in einem sogenannten Pansporoblasten entstehen. Jede Spore enthält einen Amöboidkeim und 1, 2 oder wenige schon am frischen Material deutlich sichtbare Polkapseln.

Die Myxosporidien sind Parasiten von Fischen, seltener von Amphibien und Reptilien. Sie schmarotzen innerhalb der Körperhohlräume, sowie in den Geweben ihrer Wirtstiere, dagegen niemals im Darmlumen. Intracellulär leben nur die Jugendformen. Ein großer Teil der Myxosporidien besteht aus harmlosen Schmarotzern, während manche als Erreger gefährlicher Krankheiten der Nutzfische erkannt wurden.

Morphologie der vegetativen Stadien.

Die vegetativen Stadien der Myxosporidien haben ein verschiedenes Aussehen, je nachdem sie die Körperhohlräume oder die Gewebe ihrer Wirte bewohnen. Die Größe der erwachsenen ist sehr wechselnd; während einige Arten einen Längsdurchmesser von nur wenigen Hundertsteln Millimeter erreichen (z. B. *Leptotheca parva* Thélohan nur 0,012—0,015 mm), beträgt der Durchmesser anderer bis zu mehreren Millimetern (z. B. *Sphaeromyxa sabrazesi* Laveran und Mesnil bis zu 5 mm).

Die Myxosporidien der Körperhöhlen, wie z. B. der Gallen- oder der Harnblase der Fische können verschiedene Gestalt haben. Viele von ihnen sind flach scheibenförmig (z. B. *Sphaeromyxa*-Arten), andere annähernd kugelig (z. B. *Ceratomyxa pallida* Thélohan), andere keulenförmig (*Leptotheca agilis* Thélohan

Fig. 4); bei vielen ist die Gestalt unregelmäßig gelappt und wechselnd (*Chloromyxum*- und *Myxidium*-Arten Fig. 6 u. a.). Hierzu kommt die Fähigkeit vieler Pseudopodien zu bilden, die je nach der Art verschieden gestaltet sind. So finden sich dünne fadenförmige bei *Leptotheca*- und *Ceratomyxa*-Arten (Fig. 4. u. 5),



Fig. 4.



Fig. 5.

Fig. 4. *Leptotheca agilis*. *F* = Fettkörnchen. *Ps* = Pseudopodien. *Sp* = Sporen nach Thélohan.

Fig. 5. *Ceratomyxa appendiculata* Thél. *Ps* = Pseudopodien, *Sp* = Sporen.

lappenförmige, fingerförmige oder zugespitzte bei den Gattungen *Myxidium* (Fig. 5), *Chloromyxum* u. a. Manche Arten vermögen gleichzeitig verschieden gestaltete Pseudopodien zu bilden (Fig. 6). Außer diesen Pseudopodien findet sich bei einigen

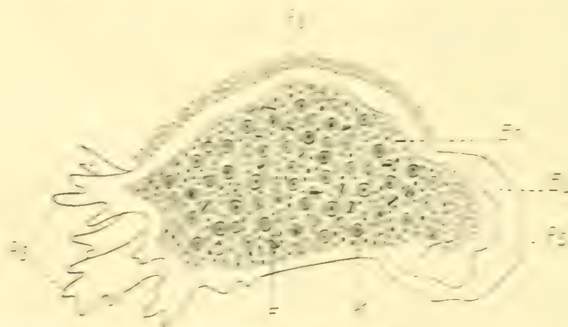


Fig. 6. *Myxidium lieberkühni*. *Ec* = Ectoplasma. *En* = Entoplasma. *F* = Fettkörnchen. *K* = Kerne. *Ps* = Pseudopodien.

ein Besatz von feinen cilienartigen, seltener verzweigten Fortsätzen, die einen Teil der Körperoberfläche bedecken können. Auch diese sind wenigstens teilweise als Pseudopodien anzusehen, da sie zurückfließen und neu gebildet werden können (siehe Fig. 6 oben).

In den Körperhohlräumen finden sich die Myxosporidien entweder frei beweglich, kriechend, oder in der betreffenden Flüssigkeit (Galle, Harn) schwebend; oder aber sie heften sich vermittels der Pseudopodien, besonders der feinen cilienartigen an das Epithel der Organe an (Fig. 7).

Der innere Bau läßt folgende Einzelheiten erkennen. Das Protoplasma scheidet sich in eine äußere Ectoplasmaschicht, die ziemlich durchsichtig ist, da sie keine oder wenige Einschlüsse enthält, und in das Entoplasma. Dieses hat meist ein körniges Aussehen und enthält Einschlüsse verschiedener Art. Bei manchen Formen ist das Entoplasma grob-vacuolär; in diesem Falle liegen die Einschlüsse in den Knotenpunkten der Vacuolenwände.

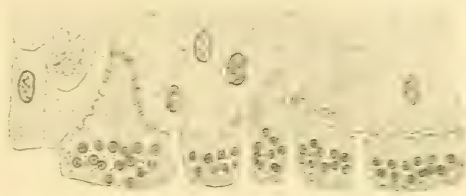


Fig. 7. *Myxidium lieberkühni.* Mehrere Exemplare an dem Epithel der Harnblase vom Hecht (*Esox lucius*) angeheftet. (Nach einem Schnittpräparat.)

Als hauptsächlichste Einschlüsse des Entoplasmas finden sich erstens die Kerne, die oft in beträchtlicher Anzahl vorhanden sind und eine Größendifferenz erkennen lassen. Es ist wahrscheinlich, daß somatische und Geschlechtskerne vorhanden sind. Ferner liegen im Entoplasma die Pansporoblasten mit Entwicklungsstadien von Sporen und schließlich in Alkohol lösliche Kügelchen fettartiger Natur.

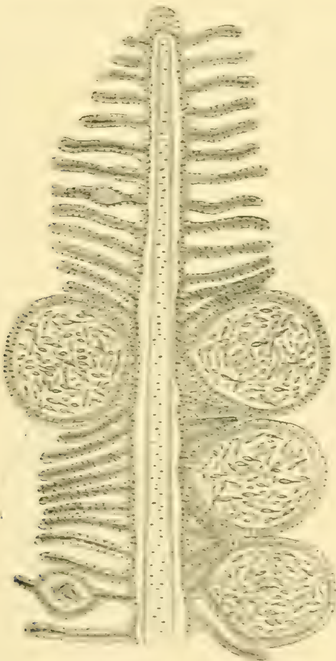


Fig. 8.

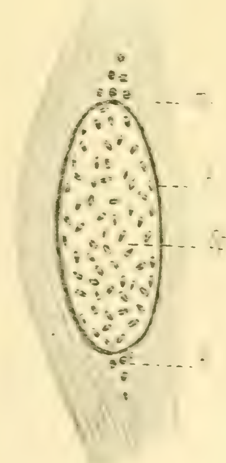


Fig. 9.

Fig. 8. Cysten einer *Henneguya*-Art in den respiratorischen Falten der Kiemenblättchen von *Acerina cernua* (nach SCHRÖDER).

Fig. 9. Cyste von *Myxobolus pfeifferi* THÉL. zwischen den Muskelfasern einer Barbe (*Barbus barbus* L.). B = Bindegewebshüllen, M = Muskelfasern, K = Kerne, Sp = Sporen (nach DOFLEIN).

in denen oft Hämatoidinkristalle eingeschlossen sind. Abgesehen hiervon enthält das Entoplasma häufig zahlreiche kleine Granula.

Die in den Geweben lebenden Myxosporidien haben eine weniger veränderliche Gestalt. Ihre Gestalt ist meist oval, kugelig oder langgestreckt, seltener gelappt; Ecto- und Entoplasma sind oft nicht so deutlich von einander abgegrenzt, sondern gehen allmählich ineinander über. Das Ectoplasma erscheint in anderen Fällen als hyaliner, körniger oder radiär gestreifter Saum. Die Oberfläche des Ectoplasmas kann sich membranartig differenzieren und eine feine Hülle bilden. Dieses ist besonders bei älteren vegetativen Stadien häufig der Fall. Das Entoplasma hat einen grobwabigen Bau und enthält die Kerne, Stadien der Sporenbildung und Fettkörnchen.

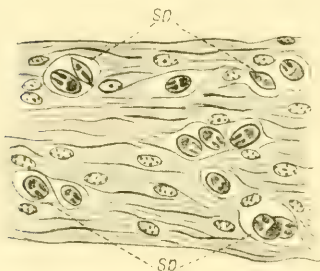


Fig. 10. Diffuse Infiltration des Bindegewebes der Barbe durch *Myxobolus pfeifferi* Thél. (nach Thélohan).

In den Geweben finden sich die Myxosporidien teils freiliegend oder als sogenannte Cysten, die meist von konzentrischen, vom Bindegewebe des Wirtes gebildeten Hüllen (Fig. 8 u. 9) umgeben sind. Vielfach findet man die jüngeren Stadien frei, die älteren desselben Myxosporids von Bindegewebshüllen umschlossen. Eine dritte Art des Vorkommens im Gewebe der Wirte ist die sogenannte diffuse Infiltration. Sie entsteht durch Zerfall eines Myxosporidienkörpers in kleinere Teile, zwischen denen sich dann Wirtsgewebe einschiebt, so daß letzteres mit den Parasiten abwechselt (Fig. 10).

Morphologie der Sporen.

Die stets von zwei Schalenklappen umgebenen Sporen können verschiedene Gestalt haben. Dieselbe läßt sich jedoch stets auf die einfachste Sporenform der *Myxobolus*-Arten zurückführen, wenn man die von Thélohan angegebene Orientierung anwendet (Fig. 11 A, B und C). Das Ende der Spore, an welchem die Polkapseln (p) liegen, bezeichnet man als Vorderende. Denkt man sich nun die

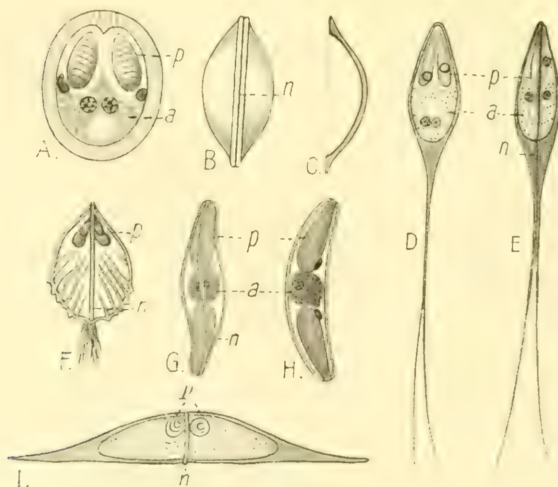


Fig. 11. A—C Spore einer *Myxobolus*-Art (A von der Fläche, B von der Kante gesehen, C einzelne Sporenklappe), D—E Spore einer *Henneguya*-Art (D von der Fläche, E von der Kante gesehen), F Spore von *Chloromyxum Leydigi* (Kantenansicht) nach Thélohan, G—H Spore von der *Sphaeromyxa hellandi* (G von der Kante, H von der Fläche gesehen) nach Auerbach, I Spore von *Ceratomyxa* sp. Kantenansicht nach Auerbach. (a = Amöboidkeim, n = Schalennaht, p = Polkapsel.)

Spore so aufgestellt, daß die Ebene, welche durch die von den beiden Schalenklappen gebildete Naht (n) geht, senkrecht zur Ebene der Unterlage steht (Fig. 11 B), so läßt sich eine rechte und eine linke Schalenklappe unterscheiden. Durch Verlängerung der Achsen der so orientierten Spore, wobei zugleich in manchen Fällen die Polkapseln auseinanderdrücken (Fig. 11 G u. H), lassen sich die verschiedenen Sporenformen erklären (Fig. 11 A—I). Der Amöboidkeim nimmt meist das Hinterende der Sporen ein (Fig. 11 A, D, E), oder liegt, falls die Polkapseln auseinandergerückt sind, in der mittleren Sporenregion. Er enthält entweder zwei Kerne oder ein Synkaryon. Bei den Gattungen *Myxobolus* und *Henneguya* findet sich im Amöboidkeim eine mit Jod färbbare Vakuole (Fig. 11 A, D, E). Am Hinterende oder neben den Polkapseln liegen häufig noch die sogenannten Polkapselkerne (Fig. 11 A, D, H).

Entwicklungsgeschichte.

Leider ist bisher von keiner Myxosporidienart der ganze Entwicklungskreis in allen Punkten festgestellt, so daß nur die Kombination der an verschiedenen Arten gewonnenen Ergebnisse ein in mancher Hinsicht noch lückenhaftes Bild zu geben imstande ist. Da die Beobachtungen und Deutungen teilweise nicht übereinstimmen, so sollen hier die verschiedenen Ansichten nebeneinander geschildert werden. Als Ausgangspunkt sei die durch Fressen von Sporen erfolgte Neuinfektion eines Wirtstieres genommen.

Unter der Einwirkung der Darmsäfte werden zunächst die Polfäden ausgeschleudert, wodurch vielleicht eine Befestigung der Sporen am Darmepithel erreicht wird. Die Schalen der Sporen klaffen nun auseinander und der Amöboidkeim kriecht heraus, dringt jedenfalls bei den Gewebsschmarotzern durch das Darmepithel hindurch und gelangt in den Blutkreislauf des Wirtes, in welchem er zu der von ihm bevorzugten Gewebsart getragen wird. Hier dringt er in eine Zelle ein, in der er sich (nach Doflein) durch vielfache Teilung vermehrt (Fig. 12). Bei Schmarotzern der Gallenblase wurde (von Auerbach) angegeben, daß die Amöboidkeime durch den Gallengang in die Gallenblase einwandern und dann erst in die Epithelzellen derselben eindringen (Fig. 13 a), die sie indessen nach einiger Zeit wieder verlassen und in das Lumen der Gallenblase gelangen. An Stelle des Kernes findet sich jetzt die chromatische Substanz diffus im Plasma verteilt. Diese Stadien vermehren sich ungeschlechtlich durch Teilung (Fig. 13 b u. c). Dann legen sich zwei derartige Keime aneinander (Fig. 13 d); der eine derselben bleibt unverändert, während der andere sich unter karyokinetischer Kernteilung durchschnürt (Fig. 13 e u. f). Die eine Hälfte dieses Keimes löst sich dann ab (Fig. 13 g), die andere verschmilzt mit dem unveränderten Keim. Die so entstandene vegetative Form enthält dann einen großen und einen kleinen Kern. Durch Wachsen und Vermehrung der Kerne entstehen die größeren vielkernigen vegetativen Stadien.



Fig. 12. *Hoferellus cyprini.* Infektion von Nierenepithelzellen mit jungen Stadien. Nach Doflein.

Die Vermehrung vegetativer Stadien durch Teilung ist mehrfach beobachtet (Auerbach, Doflein, Keysselitz, Laveran und Mesnil) und durch sie läßt sich

wohl das oft massenhafte Auftreten der Parasiten im gleichen Wirtstiere erklären. Auch eine vielfache Knospung ist bei *Myxidium lieberkühni* Bütschli von Cohn (1895) beschrieben worden, aber von Laveran und Mesnil (1902) geleugnet worden. Ebenso finden sich Angaben von Verschmelzungen (Plasmodienbildung) vegetativer

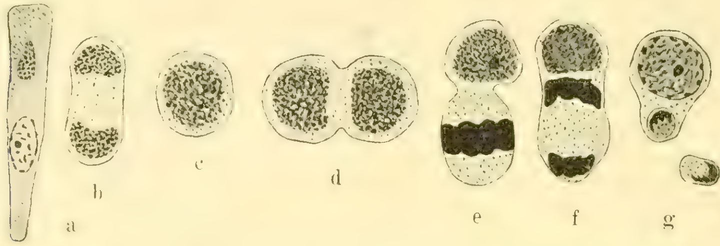


Fig. 13. Junge Stadien von *Myxidium bergense* Auerb. aus der Gallenblase von *Gadus virens* L. (Erklärung im Text.) Nach Auerbach.

Stadien, die von Doflein (1898) bei *Chloromyxum* und *Myxoproteus,* von Auerbach (1910) bei *Myxidium* und von Awerinzew (1908) bei *Ceratomyxa* beobachtet wurden.

Über die Anlage der Pansporoblasten und die Art der Sporenbildung stimmen die Ansichten noch nicht ganz überein. Sicher ist, daß sie von geschlechtlichen Vorgängen begleitet werden. Nach Keysselitz (1908) vollziehen sich bei *Myxobolus pfeifferi* Thélohan die Vorgänge in folgender Weise: Im Entoplasma verdichtet sich um je einen Kern eine Plasmazone, wodurch eine Propagationszelle entsteht. Eine Zellmembran ist nicht vorhanden, der Kern besteht aus einem Liningerüst, auf welchem das Chromatin verteilt ist; in einer achromatischen Kernsaftzone findet sich ein Caryosom (Fig. 14 A). Derartige Propagationszellen vermehren sich unter mitotischer Kernteilung und bilden, nebeneinandergelagert, typisch angeordnete Zellhaufen (Fig. 14 B u. C). Zu Beginn der Sporenbildung vereinigen sich je zwei derartige Propagationszellen nach Abschnürung je einer kleinen Zelle (Fig. 14 D u. F). Das Plasma der beiden kleinen Zellen (2) verschmilzt und bildet um die beiden größeren Zellen (1), die Gametoplasten, eine Hülle (Fig. 14 G u. H). Das so entstandene Gebilde wird als Pansporoblast bezeichnet.

Die weitere Entwicklung bezieht sich nur noch auf die von der Hülle umgebenen Gametoplasten; die Hüllzellen und ihre, meist als Restkerne (2) bezeichneten Kerne nehmen keinen weiteren Anteil an der Sporenbildung. Die Gametoplasten teilen sich nun wiederholt bis sich im ganzen zwölf Zellen in der Pansporoblastenhülle eingeschlossen finden (Fig. 14 I u. K). Vier von diesen, die ein gleiches Aussehen haben und oft durch ihre centrale Lage im Pansporoblasten kenntlich sind, vereinigen sich paarweise (Isogameten), nach Ausscheidung von Reduktionskernen (6), zu einer Copula (5), ohne daß aber ihre Kerne verschmelzen (Fig. 14 L). Es liegen somit jetzt nur zehn Zellen im Pansporoblasten, von denen aber zwei je zwei Kerne haben. Darauf tritt eine Sonderung der Zellen in zwei Haufen, den Sporoblasten, zu je fünf Zellen ein. In jedem der beiden Haufen flachen sich zwei Zellen, die Schalenzellen (3) ab und umschließen die drei übrigen; indem sie sich in die beiden Schalenklappen der Sporen verwandeln. Zwei der drei umschlossenen Zellen sind die Polkapselzellen (4); in ihnen bildet sich eine Vakuole und in ihr aufgerollt der Polfaden (Fig. 14 M). Die dritte Zelle (5) ist die zweikernige Copula, der sogenannte Amöboidkeim. In ihm verschmelzen

später die beiden Kerne zu einem Synkaryon, was seltener noch im Myxosporid, meist erst nach Überführung der Sporen in Wasser oder den Darmtractus des neu infizierten Wirtes eintritt (Fig. 14 N). Der ganze geschlechtliche Vorgang ist nach dieser Schilderung als isogame Autogamie, resp. Pädogamie, aufzufassen.

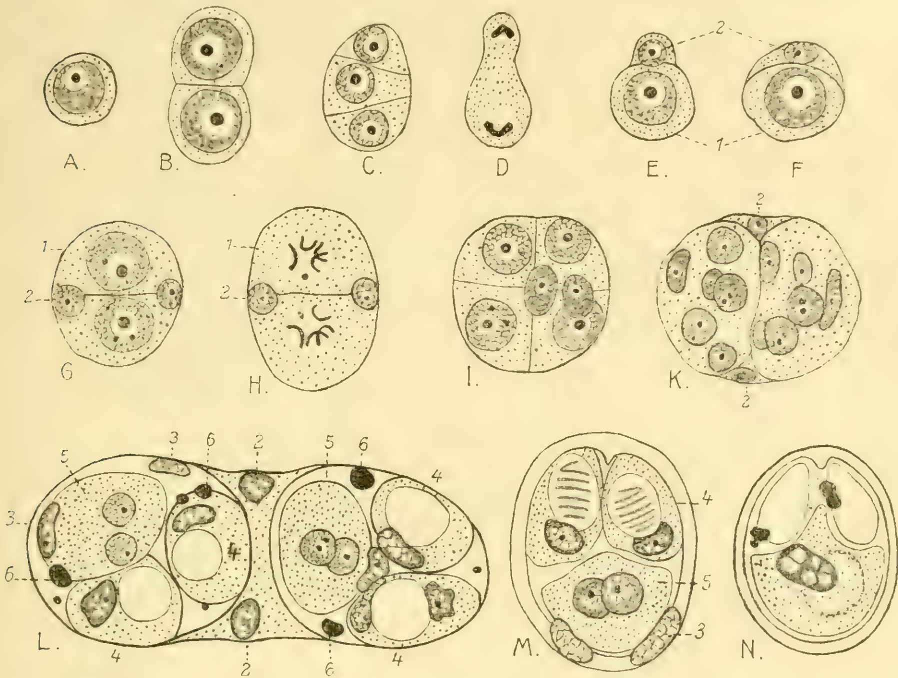


Fig. 14. Sporenbildung von *Myxobolus pfeifferi* Thél. (Erklärung im Text. Nach Keysselitz.



Fig. 15. Sporenbildung von *Sphaeromyxa sabrazesi* Laveran u. Mesnil (Erklärung im Text, Zahlenbezeichnung wie bei Fig. 14). Nach Schröder.

Von den soeben geschilderten Vorgängen ist die Zusammensetzung der Sporoblasten und die Entstehung der Sporen aus mehreren Zellen schon früher von

anderen Autoren (Léger 1906, Mercier 1906, Léger und Hesse 1906, Schröder 1907, Auerbach 1907) beschrieben und ist somit wohl als sichergestellt anzusehen. Auch die spätere Verschmelzung der beiden Kerne des Amöboidkeimes wurde bereits von Schröder (1907) bei *Sphaeromyxa sabrazesi* Laveran und Mesnil beobachtetet. Bei dieser Art scheint nach den Befunden Schröder's (1907, 1910) die Anlage der Pansporoblasten und die Bildung der Sporen in ganz ähnlicher Weise zu verlaufen, nur daß die Differenzierung besonders der jungen Pansporoblasten in einzelne Zellen nicht so deutlich ausgeprägt zu sein scheint. Die Propagationszellen von *Sphaeromyxa sabrazesi* sind unregelmäßig gestaltet (Fig. 15 A u. B), statt einer kleinen Zelle wird scheinbar nur ein kleiner Kern abgeschnürt (C 2), so daß zwei Kerne im gemeinsamen Plasma liegen. Erst nachdem zwei solche Stadien sich vereinigt haben (Fig. 15 D) verdichtet sich um die einzelnen Kerne das Plasma (Fig. 15 E), so daß man vielleicht von gesonderten Zellen sprechen könnte. Die weitere Entwicklung scheint wie bei *Myxobolus pfeifferi* nach der Schilderung von Keysselitz zu verlaufen (Fig. 15 F u. G).

Die Angaben über die Verschmelzung der Kerne des Amöboidkeims der Sporen werden auch durch die Untersuchungen Auerbach's (1909) bestätigt. Auerbach fand, daß bei *Myxidium bergense* Auerb. die beiden Kerne des Amöboidkeimes verschmelzen, wenn die Sporen in den Magen eines neuen Wirtes gelangt waren, oder spätestens im Darm, nachdem die Keime aus den Sporen gekrochen waren (Fig. 16). Das Endresultat der geschlechtlichen Vorgänge ist also immer ein Keim mit einem Synkaryon. Mercier (1906, 1909), der ebenfalls die Entwicklung von *Myxobolus pfeifferi* untersuchte kam zu anderen Ergebnissen. Nach ihm bilden sich im vegetativen Myxosporid Macro- und Microgameten, die paarweise copulieren (Fig. 17), indem auch ihre Kerne zu einem Synkaryon verschmelzen.



Fig. 16.

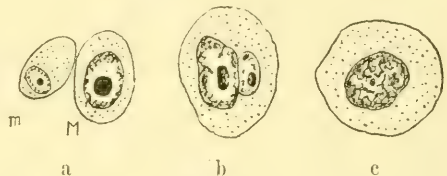


Fig. 17.

Fig. 16. Amöboidkeime von *Myxidium bergense*, nach Verlassen der Sporen im Darme des Wirtes (*Gadus virens* L.) (a mit zwei Kernen, b Verschmelzen der Kerne, c mit Synkaryon). Nach Auerbach.

Fig. 17. *Myxobolus pfeifferi* Thél. A Makro- *(M)* und Mikro- (*m*) gameten. B Verschmelzen derselben. C Die Kerne sind zu einem Synkaryon verschmolzen. Nach Mercier.

Der Kern des jungen Pansporoblasten teilt sich, bis vierzehn Kerne vorhanden sind, von denen dann zwei als Restkerne ausgestoßen werden. Die übrigen zwölf Kerne verteilen sich zu je sechs auf die beiden Sporoblasten. Der Amöboidkeim bleibt zweikernig.

Awerinzew (1908) untersuchte die Sporenbildung von *Ceratomyxa drepanopsettae* Awerinzew aus der Gallenblase von *Pleuronectes platessa* L. und *Drepanopsetta platessoides* Fabr. Diese Myxosporidienart zeichnet sich dadurch aus, daß sie nur zwei Sporen bildet und zwar liegen dieselben nicht in einem gemeinsamen Pansporoblasten, sondern entstehen ziemlich unabhängig voneinander im Plasma des Myxosporids, das somit in seiner Gesamtheit einem einzelnen Pansporoblasten der anderen Myxosporidien zu vergleichen ist. Der Vorgang der Sporenbildung soll nach Awerinzew folgendermaßen verlaufen. Im zweikernigen vegetativen

Myxosporid treten beide Kerne in karyokinetische Teilung, als deren Ergebnis vier Kerne, zwei somatische (1) (den Hüllzellkernen der Pansporoblasten anderer Myxosporidien gleichwertige) und zwei Geschlechtskerne (2) entstehen (Fig. 18 A). Um jeden der beiden letzteren verdichtet sich das Plasma zu einer Zelle, so daß zwei generative Zellen (Gametoblasten) entstehen, die sich meist durch ihre verschiedene Größe unterscheiden und als Macro- und Microgametocyten bezeichnet werden können. Beide teilen sich, wodurch zwei Macro- (3) und zwei Microgameten (4) gebildet werden (Fig. 18 B). Jeder der Gameten stößt einen

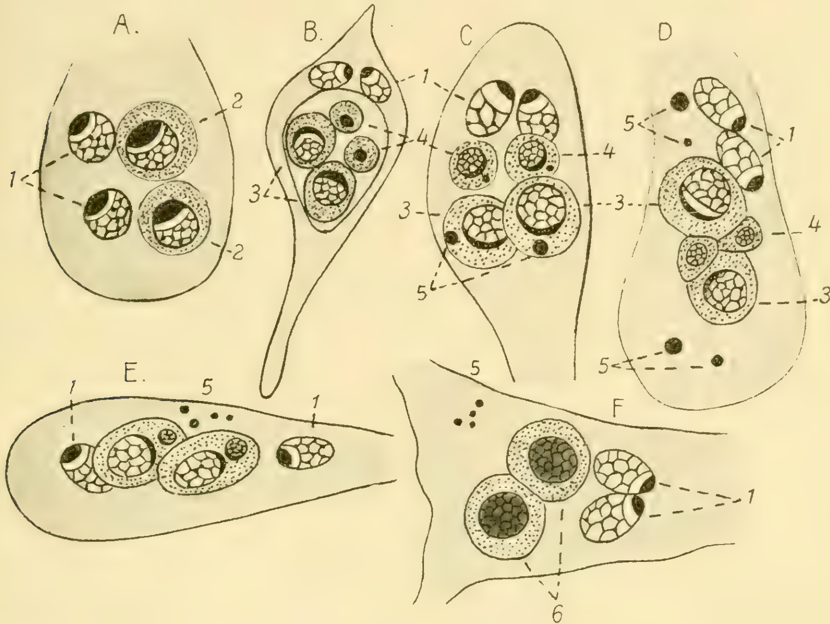


Fig. 18. Sporenbildung von *Ceratomyxa drepanopsettae* Awer. (Erklärung im Text). Nach Awerinzew.

Reduktionskern (5) ins umgebende Plasma ab (Fig. 18 C), der dort resorbiert wird. Dann legen sich je ein Macro- und ein Microgamet paarweise zusammen und Plasma und Kerne verschmelzen. Auf diese Art entstehen im Myxosporid zwei Sporoblasten (6) mit einem Synkaryon (Fig. 18 d—f). Aus jedem von ihnen gehen durch aufeinanderfolgende Kern- und Zellteilungen fünf Zellen hervor, von denen je zwei, die Schalen- und die Polkapselzellen einkernig sind, während der Amöboidkeim zweikernig ist.

Wie man sieht, weicht auch Awerinzew's Darstellung (wie die Mercier's) von den Befunden Schröder's (1907) und Keysselitz's (1908) darin wesentlich ab, daß schon bei der Copulation der Gameten, also vor der Sporenbildung eine Karyogamie eintreten soll. Aus Mercier's Angaben sei besonders hervorgehoben, daß nach ihm aus einer Gametencopula beide Sporen des Pansporoblasten hervorgehen sollen, während nach Awerinzew jede Spore aus je einer Copula entsteht.

Auerbach (1909) beschrieb gleichfalls die Sporenbildung einiger Arten, bei denen die ganze vegetative Form die Rolle eines Pansporoblasten übernimmt. Bei *Zschokkella hildae* Auerb. aus der Harnblase von *Gadus callarias* L. und *G. virens* L. ist von besonderem Interesse, daß in der Regel nur eine einzige Spore gebildet wird.

Pathologie.

Eine große Anzahl der Myxosporidien sind harmlose Schmarotzer der Gewebe oder der Körperhöhlen ihrer Wirte. Besonders die Bewohner der Gallen- oder der Harnblase der Fische bewirken meist keine oder sehr geringe Veränderungen der Gewebe. Immerhin ist in einigen Fällen eine Reaktion des Wirtsgewebes beobachtet worden. So soll, um ein Beispiel anzuführen, nach der Angabe von Keysselitz (1908) eine *Myxidium*-Art aus der Gallenblase von *Gadus virens* L. eine starke Cystitis hervorrufen können. Die Wand der Gallenblase verdickt sich auf das 3—4 fache des normalen Zustandes, indem sich eine Wucherung der sich faltenden Schleimhaut einstellt. Es kann später zu einer Ausheilung kommen.

Auch unter den gewebebewohnenden Myxosporidien, die in Form von Cysten oder in diffuser Infiltration auftreten, gibt es viele unschädliche Arten. Die befallenen Organe reagieren in einigen Fällen fast gar nicht auf die Infektion oder regenerieren nur die vom Parasiten verdrängten oder geschädigten Gewebspartien (siehe Fig. 8). In den meisten Fällen aber wird der Parasit wenigstens von einer bindegewebigen Hülle umschlossen (Fig. 9), die unter Umständen eine erhebliche Dicke erreichen kann. Dies ist meistens bei den in Form von Cysten auftretenden Arten der Fall. Mehrere Cysten können schließlich wieder von einer gemeinsamen Bindegewebshülle umschlossen werden, so daß oft ansehnliche Gebilde, bis über Hühnereigröße, entstehen können (Fig. 19). Auch Gewebspartien mit diffuser Infiltration sind häufig von Bindegewebshüllen umschlossen.

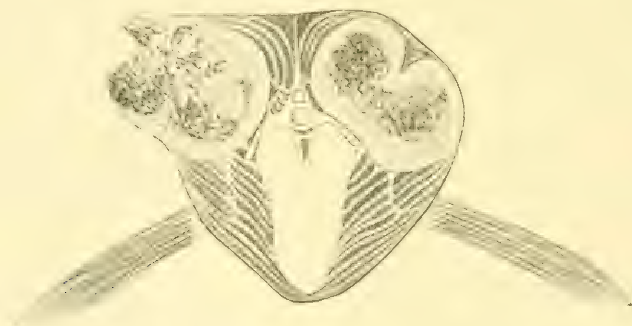


Fig. 19. Querschnitt durch den Körper einer Barbe mit zwei großen Cysten von *Myxobolus pfeifferi*. Nach Keysselitz.

Je nach der Größe oder der Zahl der so gebildeten Tumoren kann die Infektion für die befallenen Fische verderblich werden, teils wegen der durch die mechanische Reizung gestörten Funktionen der Organe, teils wegen der von manchen Arten wahrscheinlich ausgeübten Giftwirkung, sowie durch Hinzutreten sekundärer Bakterieninfektionen.

Von pathogenen Arten seien hier die wegen der von ihnen bei Nutzfischen hervorgerufenen Erkrankungen wichtigsten erwähnt.

Myxobolus pfeifferi Thélohan.

Diese Art, die hauptsächlich in Barben (*Barbus barbus* L.), aber auch in anderen Fischen oft als ziemlich harmloser Schmarotzer vorkommt, hat sich in manchen

Flußgebieten, z. B. Maas, Mosel, Rhein, Seine, Marne, als Erreger einer gefährlichen Krankheit, der Barbenseuche, erwiesen, die den Barbenbestand einzelner Flußläufe zu vernichten imstande ist.

Die Sporen von *Myxobolus pfeifferi* (Fig. 14 M u. N) sind ovale, abgeflachte Gebilde von 12 μ Länge und 10 μ Breite. Zwischen den beiden etwa 5—6 μ langen Polkapseln springt vom vorderen Innenrande der Spore ein zahnartiger Fortsatzvor. Die in 7—8 Windungen spiralig in den Polkapseln aufgerollten Fäden erreichen, ausgeschnellt, eine Länge von etwa 34 μ. Der Amöboidkeim enthält zwei Kerne, resp. ein Synkaryon und eine mit Jod färbbare Vakuole.

Der Parasit kann sich in fast allen Organen der Barben vorfinden, befällt aber hauptsächlich die Muskulatur, die er zerstört (Fig. 9 und Fig. 20) und in welcher er sehr große Tumoren zu erzeugen imstande ist, die oft beulenartig über die Oberfläche des Körpers hervorragen (Fig. 19). Häufig platzen dieselben auf und entleeren ihren aus Sporen und zerfallenen Gewebsteilen bestehenden Inhalt ins Wasser. Bei schwacher Infektion ist eine Ausheilung der Tumoren möglich, starke Infektion führt aber meist zum Tode der Wirtsfische.

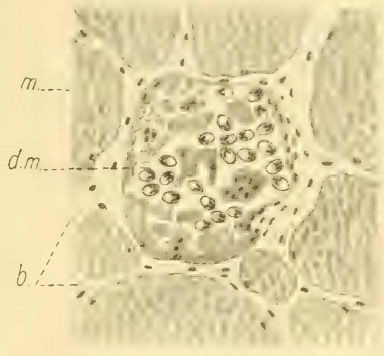


Fig. 20. Querschnitt durch eine von *Myx. pfeifferi* infizierte Muskelfaser. (*b* = Bindegewebe, *dm* = degenerierte Muskelfaser mit Sporen des Parasiten, *m* = gesunde Muskelfasern). Nach Thélohan.

Die erkrankten Fische suchen ermattet die Oberfläche auf; ihr Glanz ist geringer als bei gesunden, ihre Bewegungen sind taumelnd. Häufig tritt eine sekundäre Infektion der Tumoren von Bakterien hinzu. Als vorbeugendes Mittel gegen die Barbenseuche empfiehlt sich das Vernichten der erkrankten oder der Krankheit erlegenen Barben durch Verbrennen oder Vergraben.

Myxobolus neurobius Schuberg und Schröder.

Diese Art, die wahrscheinlich eine starke pathogene Wirkung auszuüben imstande ist, ist ein Parasit des Nervensystems der Forellen und Äschen.

Die eiförmigen Sporen haben eine Länge von 10—12 μ bei einer Breite von 8 μ. Die Polkapseln sind 6—7 μ lang. Die Cysten finden sich in fast allen

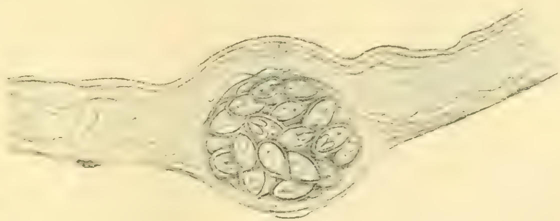


Fig. 21. Cyste von *Myxobolus neurobius* in einer Nervenfaser. Nach Schuberg und Schröder.

Zweigen des Nervensystems und im Rückenmark häufig in sehr großer Zahl; innerhalb der Nervenfasern liegen sie zwischen der Schwann'schen- und der Markscheide (Fig. 21).

Myxobolus cyprini Doflein und Hofer.



Fig. 22. Spore von *Myxobolus cyprini*. Nach Doflein.

Diese Art wurde von Hofer und Doflein als Erreger der Pockenkrankheit der Karpfen angesehen. Die ellipsoiden Sporen (Fig. 22) sind 10—16 μ lang und 8—9 μ breit. Die erkrankten Fische zeigen weißliche Verdickungen der Epidermis, welche ausschließlich aus Epithelzellen bestehen. In der Niere der Fische fanden Hofer und Doflein stets Exemplare von *Myxobolus cyprini* und sahen die Niereninfektion als Ursache der Epithelwucherungen an. Neuere Autoren bestreiten dieses, da in manchen Fällen von Pockenkrankheit die Parasiten in der Niere vermißt wurden.

Lentospora cerebralis Hofer.

Diese Art ist als Erreger der in Züchtereien auftretenden Drehkrankheit der Salmoniden von besonderer Bedeutung. Die Sporen (Fig. 23) sind linsenförmig mit nahezu kreisförmigem Umriß; ihr Durchmesser beträgt 7—9 μ. Sie sind im Bau den Myxobolus-Sporen sehr ähnlich, unterscheiden sich indessen durch das Fehlen einer mit Jod färbbaren Vakuole.

Lentospora cerebralis befällt die knorpeligen Teile und das Perichondrium des Skelets junger Salmoniden, besonders des Kopfes, Schwanzes und der Flossen, wo sie typische Granulosebildungen herbeiführen. Die Knochen der Wirte werden nicht angegriffen. Als Folge der Schädigung durch den Parasiten treten Deformierungen auf; z. B. der Kopf der Fische erscheint schief, oder die Kiemenbogen erscheinen gespreizt, die Kiemendeckel zeigen beulenförmige Auftreibungen, das Maul kann nicht geschlossen werden usw. Häufig sind die Schwanzwirbel infiziert und das Hinterende des Körpers ist dann dunkel, fast schwarz, verfärbt. Die auffallendste Erscheinung tritt aber hervor, wenn das Gehörorgan, besonders die halbzirkelförmigen Kanäle befallen sind. Die Fische führen dann taumelnde Bewegungen aus und haben nicht die Fähigkeit ihre natürliche Lage einzuhalten. Häufig führen sie auch schnelle kreisende Bewegungen aus. In vielen Fällen führt die Krankheit zum Tode, doch kann auch Heilung erfolgen. *Lentospora cerebralis* ist auch im knorpelreichen Skelet verschiedener Schellfischarten (Gadiden) nachgewiesen worden. Indem diese Fische zur Herstellung von Fischfutter verwandt werden, kann die Krankheit auf junge Salmoniden übertragen werden. Die Infektion läßt sich verhindern, wenn das aus Seefischen hergestellte Fischfutter vor der Verabreichung gekocht wird.



Fig. 23. Kleines Exemplar von *Lentospora cerebralis* mit zwei Sporen. Nach Plehn.

Microsporidia Balbiani.

Definition: Cnidosporidien mit zweiklappigen Sporen, welche zu 1, 2, 4, 8, 16 oder vielen aus einem Sporonten hervorgehen. Jede Spore enthält nur eine Polkapsel, die meist erst nach Zusatz von Reagentien sichtbar wird.

Die Microsporidien sind Schmarotzer von Amphibien, Fischen, Würmern, Bryozoen und besonders Arthropoden; neuerdings sind sie auch als Parasiten von Protozoen nd zwar in Gregarinen gefunden worden. Fast alle Arten sind Zell-

parasiten, nur wenige bewohnen die Körperhöhlen ihrer Wirte. Auch unter den Microsporidien gibt es harmlose und pathogene Arten, von welchen einige als Erreger von Seuchen z. B. bei Seidenraupen und bei Bienen von besonderer Bedeutung sind.

Morphologie der vegetativen Stadien.

Die vegetativen Stadien sind einkernige oder mehrkernige Gebilde, die sich ungeschlechtlich vermehren. Sie haben meist eine sehr geringe Größe und können sich in beträchtlicher Anzahl in einer Wirtszelle finden (Fig. 24). In einzelnen

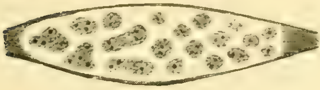


Fig. 24.



Fig. 25.

Fig. 24. *Thelohania chaetogastris.* Zahlreiche Schizonten in einer Muskelfaser eines Oligochäten (*Chaetagaster diaphanus* Cruith). Nach Schröder.

Fig. 25. *Mariona marionis* Thél. (*ec* = Ectoplasma, *en* = Entoplasma, *sp* = Sporen). Nach Thélohan.

Fällen können die mehrkernigen Formen eine bedeutendere Größe erreichen. Die Unterscheidung von Ecto- und Entoplasma ist wenigstens bei den Zellschmarotzern nicht so deutlich, wie bei den Myxosporidien, ebensowenig findet sich Pseudopodienbildung. Dagegen läßt sich beides bei einer frei in der Gallenblase von Fischen vorkommenden Art, *Mariona marionis* Thélohan beobachten (Fig. 25).

Morphologie der Sporen.

Die stets sehr kleinen Sporen sind ellipsoid, birnförmig, eiförmig, seltener bohnenförmig gestaltet. Bei einigen Arten läßt sich eine leichte ringförmige Einschnürung im vorderen Drittel der Spore erkennen. Abweichend gebaut sind die Sporen der Gattung *Myxocystis,* die eine langgestreckte Gestalt haben.

Die Sporenhülle besteht wahrscheinlich aus zwei Schalen, deren Vorhandensein indessen an reifen Sporen schwer nachzuweisen ist. Am Vorderende der Spore mündet die Polkapsel (Fig. 26 p), die sich oft weit bis ins Hinterende erstreckt. Dieselbe wird meist erst nach Zusatz von Reagentien sichtbar. Ihr Bau entspricht im wesentlichen dem der Myxosporidien-Polkapseln, nur ist die Kapselwand viel zarter. Der Keim der Spore bildet in seiner Hauptmasse eine ringförmige Ansammlung in der mittleren Sporenregion (Fig. 26 a); in ihr liegen die Kerne (*a k*), über deren Zahl die Ansichten noch geteilt sind. Es werden ein, zwei oder vier für die reifen Sporen

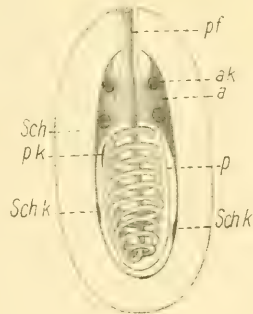


Fig. 26. Schema des Baues einer Spore von *Nosema bombycis.* *a* = Amöboidkeim, *ak* = Kerne desselben, *p* = Polkapsel, *pf* = Polkapselfaden, *pk* = Polkapselkern, *Sch* = Schale. *Schk* = Schalenkern.) Nach Stempell.

angegeben. (Überhaupt sind die Angaben über den Bau der Microsporidienspore noch nicht so geklärt wie bei den Myxosporidien. Es wird sogar das Vorhandensein einer eigentlichen Polkapsel bestritten, sowie die Zusammensetzung der Spore aus zwei Schalen [Schuberg 1910].)

Entwicklungsgeschichte.

Unsere Kenntnisse von der Entwicklungsgeschichte der Microsporidien sind noch ebenso lückenhaft wie die der Myxosporidien, und viele Angaben bedürfen noch der Bestätigung. Immerhin ist es schon möglich sich ein Bild vom Entwicklungskreis einer Microsporidie zu machen. Als Beispiel sei hier zunächst der Entwicklungskreis von *Nosema bombycis* Nägeli, einer der am genauesten bekannten Arten, nach Stempell's Untersuchungen (1909) geschildert.

Infiziert sich eine Raupe durch Fressen von Sporen, so schnellt der Polfaden im Darm aus und die Amöboidkeime schlüpfen aus (Fig. 27 a). Sie haben eine unregelmäßige Gestalt und besitzen zunächst noch zwei Kerne, die indessen bald verschmelzen. Diese von Stempell Planonten genannten Stadien sind 0,5—1,5 μ groß; sie vermehren sich stark durch Zweiteilung und Knospung, wodurch sie



Fig. 27. Entwicklungskreis von *Nosema bombycis*. Nach Stempell.

häufig nesterartige Ansammlungen bilden. Sie verlassen bald das Darmlumen, indem sie intercellulär, zwischen den Epithelzellen des Darmes hindurch, in den Körper der R upe wandern. Nachdem sie in den Blutstrom gelangt sind, werden sie in die verschiedenen Regionen des Raupenkörpers geführt, wobei sie sich stets noch in der angegebenen Weise vermehren. Sehr bald aber, schon vom zweiten Tage an, treten sie in das Plasma irgendeiner Gewebszelle ein.

Die jetzt intracellulären Stadien (Fig. 27 b), Meronten oder Schizonten genannt, sind etwa 3 μ groß. Sie vermehren sich in der Zelle durch aufeinanderfolgende Zweiteilungen unter direkter (amitotischer) Kernteilung. Da die Plasmadurchschnürung mit der Kernteilung nicht immer Schritt hält, kann es zur Bildung rosenkranzähnlicher mehrkerniger Ketten kommen. Außer Zweiteilung findet man auch Knospung und Vielteilung. Bei Eintritt ungünstiger Bedingungen in der infizierten Zelle verwandeln sich die Meronten in Sporonten. Um jeden derselben bildet sich eine dünne Hülle und im Plasma tritt eine Vakuole auf, die zuerst nur an einem Ende des allmählich eiförmig werdenden Sporonten zu finden ist (Fig. 27 c). Schließlich erstreckt sich die Vakuole bis zum anderen Pole der jungen Spore, wodurch das Sporenplasma auf eine mittlere ringförmige Zone beschränkt wird (Fig. 27 d). Der Kern hat sich inzwischen geteilt und es finden sich bald vier Kerne im Plasma, von denen wahrscheinlich zwei als Schalenzellkerne, einer als Polkapselzellkern und einer als Amöboidkeimkern aufzufassen sind. Letzterer teilt sich noch einmal (Fig. 27 e) und inzwischen bilden sich die Sporenschalen und die Polkapsel aus. Solche ausgebildeten Sporen erfüllen oft den ganzen Hohlraum der abgestorbenen Wirtszelle und werden nur von der Zellwand zusammengehalten. Solche Zellen werden aus den Geweben in die angrenzenden Körperhohlräume, z. B. bei Darmepithelzellen in das Darmlumen, ausgestoßen, wo sie sich abrunden. In ihnen können die Sporen lange Zeit unverändert bleiben; erst nach ihrer Überführung in den Darm einer anderen Raupe geht eine Veränderung im Amöboidkeim vor sich. In ihm teilen sich die beiden Kerne, so daß der Keim vierkernig wird (Fig. 27 f, g). Gleichzeitig schnellt der Polfaden aus (h) und der Amöboidkeim kriecht hervor (i), nachdem er vorher zwei der vier Kerne ausgestoßen hat. Aus diesen jetzt zweikernigen Keimen gehen dann wieder die einkernigen Planonten hervor, indem wahrscheinlich die beiden Kerne (ähnlich wie bei den Myxosporidien) zu einem Synkaryon verschmelzen.

Manche der eben geschilderten Vorgänge wurden wiederholt bei anderen Microsporidien beobachtet und können daher als sichergestellt betrachtet werden. Dieses gilt zunächst für das Verhalten der Meronten (Schizonten) und ihre Vermehrungsweise. Ihre direkte Kernteilung wurde von Stempell (1902), Hesse (1904), Perrin (1906), Schröder (1909) u. a. beschrieben. Dagegen beschrieb Pérez (1904) bei der Merogonie (Schizogonie) von *Thelohania maenadis* Kernteilungen, die an eine typische Mitose erinnern (Fig. 28).

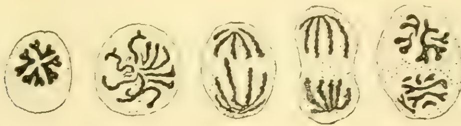


Fig. 28.

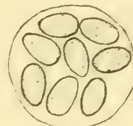


Fig. 29.

Fig. 28. Stadien der Schizogonie von *Thelohania maenadis* mit mitotischer Kernteilung. Nach Pérez.

Fig. 29. Pansporoblast von *Thelohania maenadis*. Nach Pérez.

Während bei der Gattung *Nosema* (und *Myxocystis*) aus einem Meronten ein Sporont hervorgeht, der sich in eine Spore verwandelt, findet bei anderen Gattungen eine Vermehrung des Sporonten durch aufeinander folgende Teilungen oder gleichzeitigen Zerfall in mehrere (*Perezia* 2, *Gurleya* 4, *Thelohania* 8, *Duboscqia* 16) bis viele (*Plistophora, Glugea*) Teilstücke (Sporoblasten) statt. Diese sind oft von einer gemeinsamen Hülle umgeben und man bezeichnet das ganze Gebilde (im Anschluß an die Verhältnisse bei den Myxosporidien) als Pansporoblasten (Fig. 29).

Nach Mercier's Untersuchungen an *Thelohania giardi* (1909) leitet ein geschlechtlicher Vorgang die Sporontenbildung ein. Am Ende der Merogonie (Schizogonie) werden Isogameten gebildet, die sich durch ihr Aussehen von den Meronten unterscheiden. Zwei Isogameten verschmelzen dann, indem sich sowohl ihr Plasma als auch die Kerne vereinigen (Fig. 30 a—c). Der so gebildete Sporont beginnt dann sich in acht Sporoblasten zu teilen, wobei eine Hülle, ähnlich wie die Pansporoblastenhülle der Myxosporidien, und wie sie auch Pérez (1904) bei *Thelohania maenadis* beschrieben hat, gebildet werden soll (Fig. 30 d—e). In den zuerst einkernigen Sporoblasten entstehen durch Teilung fünf Kerne, zwei Schalenzellkerne, ein Polkapselzellkern und zwei Amöboidkeimkerne (Fig. 30 f—i). Zu gleicher Zeit differenzieren sich die beiden Schalenzellen und die Polkapsel, während das Plasma des Keimes sich ringförmig in der mittleren Sporenregion zusammenzieht (Fig. 30 k—o).

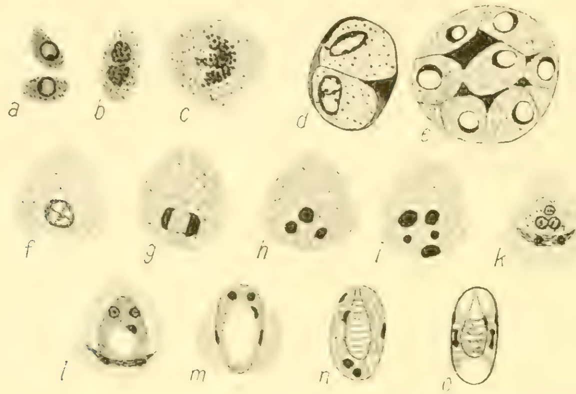


Fig. 30. Sporenbildung von *Thelohania giardi* (Erklärung im Text). Nach Mercier.

Über den Kernteilungsvorgang bei der Sporoblastenbildung sind verschiedene Deutungen gegeben worden. Henneguy und Thélohan (1902) sprechen bei einer von ihnen untersuchten *Thelohania*-Art von einer typischen Mitose. Stempell 1902 nimmt bei *Thelohania mülleri* eine direkte Kernteilung an, Hesse (1904) spricht bei *Thelohania legeri* von einer Art Mitose, Mercier (1908, 1909) schildert die Kernteilung der Sporoblasten als zwischen der direkten und indirekten vermittelnd. Bei *Thelohania maenadis* sollen nach Pérez (1904) die acht Sporoblastenkerne gleichzeitig aus einem Chromidialapparat entstehen, worauf sich das Plasma in acht Zellen sondert.

Die Zusammensetzung der Sporen aus mehreren Zellen (Amöboidkeim, 2 Schalenzellen, 1 Polkapselzelle) wurde zuerst von Léger und Hesse (1907), dann von Mercier (1908) beschrieben und wird auch von Awerinzew (1909), Schröder (1909) und Stempell (1909) angenommen. Dagegen vertritt Schuberg (1910) nach Untersuchung einer *Plistophora*-Art die Ansicht, daß eine eigentliche Polkapsel bei den Microsporidien nicht vorhanden ist, vielmehr der Polfaden frei in der Spore liegt, und daß ferner die Zweiklappigkeit der Sporenschale nicht erwiesen sei. Die Sporoblasten sowie die Sporen sollen auch stets nur einkernig sein.

Pathologie.

Wie unter den Myxosporidien gibt es auch unter den Microsporidien viele harmlose Schmarotzer, die die Zellen nur einer Gewebsart oder der verschiedensten Gewebsarten bewohnen. Häufig reagieren die infizierten Gewebe fast gar nicht auf die Anwesenheit der Parasiten. In anderen Fällen, oder bei stärkerer Infektion, werden die infizierten Gewebspartien von einer bindegewebigen Hülle umgeben, wie es bei den Myxosporidien geschildert wurde. Solche Cysten können eine sehr ansehnliche Größe erreichen, ähnlich wie bei *Myxobolus pfeifferi* Thél. Solch große beulenartige Cysten finden sich z. B. häufig bei Stichlingen, wo sie auf eine Infektion von *Glugea anomala* Moniez zurückzuführen sind, eine Microsporidienart, die unter den Stichlingen oft Epidemien hervorruft. Viele Microsporidien mit starker ungeschlechtlicher Vermehrung zerstören die Gewebe der Wirte fast vollständig und führen so schließlich den Tod der Wirtstiere herbei.

Das Plasma der infizierten Zellen wird bei Anwesenheit vieler Parasiten oft ganz zerstört. Man findet dann die Parasiten in der Zellwand eingeschlossen und zwischen ihnen den Kern der Wirtszelle. Dieser ist häufig hypertrophisch verändert; er erscheint dann stark aufgequollen, oft gelappt oder verästelt und es kann sogar zu direkter Kernteilung oder Kernfragmentation kommen (Mrázek 1900 u. 1910, Schröder 1909, Schuberg 1910). Derartige Kerne sind wahrscheinlich von manchen Autoren als vegetative Kerne der Parasiten aufgefaßt worden. Eine im Fettkörper der Küchenschabe (*Periplaneta orientalis* L.) schmarotzende *Plistophora*-Art verursacht eine starke Hypertrophie desselben, indem es die Fettkörperzellen zu starker Vermehrung veranlaßt. Dabei ist die Kernteilung der Zellen eine indirekte, während sie sich normalerweise unter direkter Kernteilung vermehren (Mercier 1908).

Nosema bombycis Naegeli.

Diese Art ist ein gefährlicher Schmarotzer der Seidenraupen, bei denen er die unter dem Namen Pébrine (Gattina) bekannte Seuche hervorruft. Die eiförmigen Sporen (Fig. 26 u. 27) sind nur 3 μ lang und 2 μ dick; die Dicke der Schale beträgt etwa 0,5 μ. Der in der Polkapsel spiralig aufgerollte Polfaden hat eine Länge von etwa 30 μ.

Der Parasit findet sich wie bereits oben ausgeführt in fast allen Geweben der Raupen und Schmetterlinge; von besonderem Interesse ist die Tatsache, daß auch Eier infiziert sein können, so daß die Krankheit also vererbt wird. In den Eiern finden sich die Meronten hauptsächlich im Centrum, wo sie die Entwicklung des Embryos am wenigsten stören, und wachsen später direkt in die embryonalen Zellen hinein. Die Neuinfektion wird hauptsächlich durch die mit dem Kote der Raupen entleerten Sporen, die so auf die Futterpflanzen gelangen, vermittelt.

Das einzige vorbeugende Mittel gegen die Krankheit ist die Vernichtung der erkrankten Raupen, und besonders der infizierten Eier, die, wie zuerst Pasteur zeigte, durch mikroskopische Untersuchung von gesunden zu unterscheiden sind.

Nosema apis Zander

ruft bei den Bienen, die den Züchtern unter dem Namen der sogenannten Ruhr bekannte Krankheit hervor, die zahlreiche Bienenvölker vernichten kann.

Nosema lophii Doflein.

Die Sporen dieser Art sind oval, oft bohnenförmig gekrümmt, 3,5 μ lang und 1,5 μ breit. *Nosema lophii* bewohnt einen marinen Fisch, *Lophius piscatorius*. Die

Infektion ist zunächst intracellulär und zwar werden die Ganglienzellen des Centralnervensystems, aber auch benachbarte Bindegewebszellen befallen. Später finden sich die Parasiten als Cysten auch intercellulär. Indem mehrere Cysten verschmelzen, entstehen ansehnliche kugelige Gebilde, die in größerer Anzahl zusammenliegend traubenförmige Tumoren an den Nerven bilden.

Technik der Untersuchung.

Um lebende Cnidosporidien zu untersuchen ist es nötig, sie in demselben oder einem ähnlichen Medium zu lassen, in welchem sie unter natürlichen Bedingungen vorkommen. Arten, welche die Körperhöhlen ihrer Wirte bewohnen, untersucht man am besten in den entsprechenden Flüssigkeiten, z. B. Bewohner der Harnblase im Harne, Bewohner der Gallenblase in der Gallenflüssigkeit ihrer Wirte. Andernfalls kann man zum Ersatze und bei Gewebsbewohnern physiologische (3/4 %) Kochsalzlösung verwenden. In diesen Flüssigkeiten werden die Parasiten vermittels einer Pipette oder eines Spatels auf einen Objektträger gebracht und ein durch sogenannte Wachsfüßchen gestütztes Deckglas darübergelegt. Sehr lange halten sich die Parasiten meist nicht, und es ist sehr darauf zu achten, ob die beobachteten Erscheinungen (z. B. Teilung oder Knospung) an lebensfrischen, oder an absterbenden Exemplaren sich vollziehen.

Zur Konservierung sind mehrere Flüssigkeiten geeignet. Gute Ergebnisse erzielt man meist mit Sublimatgemischen, wovon besonders die von Schaudinn angegebene Mischung von gleichen Teilen konz. Sublimat und Alkohol absol. hervorzuheben ist. Oft ist ein Erwärmen dieser Gemische vor dem Gebrauch ratsam. Von anderen Gemischen sei hier noch das Flemming'sche angeführt, das besonders zur Erhaltung der Plasmastrukturen geeignet erscheint.

In diese Gemische läßt man die von den Parasiten infizierten, nicht zu großen Gewebsstücke hineinfallen. Bei infizierten Gallen- oder Harnblasen empfiehlt es sich in dieselben mit einer Pipette die Fixierungsflüssigkeit zu injizieren, indem man die Blase zugleich in die Flüssigkeit hineinlegt, oder unter dem Fixierungsgemisch aufschneidet, um ein schnelleres Eindringen in die Blase zu ermöglichen. In manchen Fällen erzielt man dadurch gute Ergebnisse, daß man die Parasiten besonders der Gallen- oder Harnblase mit den betreffenden Flüssigkeiten auf ein Deckglas in dünner Schicht aufstreicht und das Deckglas mit der bestrichenen Seite nach unten auf die Fixierungsgemische fallen läßt. Diese Methode eignet sich besonders für kleinere Arten. Die weitere Behandlung, Färbung usw. geschieht wie bei Schnitten. Zur Herstellung von Dauerpräparaten der fixierten ganzen Parasiten sind verschiedene Färbungsmethoden anwendbar, wie Hämatoxylin nach Delafield, Grenacher oder Ehrlich, Hämalaun, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, sowie verschiedene Karminfärbungen.

Außer Totalpräparaten wird in den meisten Fällen die Untersuchung von Mikrotomschnitten nötig sein. Zur Färbung derselben empfehlen sich: Hämatoxylin mit oder ohne nachfolgende Eosinfärbung, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain oder nach van Gieson-Weigert, Giemsa-Gemisch in der von v. Prowazek (1907) angegebenen Weise. Zur Färbung der in den Schnitten vorhandenen Sporen von Myxosporidien sind außer den ebengenannten noch gut: Safranin und Gentianaviolett (nach Fixierung mit Flemming's Gemisch), sowie, nach Durchfärbung der Objekte mit Boraxkarmin, Schnittfärbung mit Thionin.

Das Ausschnellen der Polfäden, daß natürlicherweise durch die Magen- und Darmsäfte der Wirtstiere hervorgerufen wird, kann man durch verschiedene Mittel bewirken. Von den vielen angeführten Methoden, die indessen nicht immer gelingen, sei hier angeführt: Glycerin, Äther, Salzsäure, Salpetersäure, längeres Liegen

in Wasser, Druck unter dem Deckglas, Ammoniak, Kalkwasser, schwache Kali- oder Natronlauge. Am leichtesten schnellen die Polkapselfäden auch von älterem konservierten Material aus, wenn man die Sporen auf einem Deckglas ausstreicht, lufttrocken werden läßt und mit einem Tropfen konz. Salpetersäure über der Flamme erhitzt. Nach Auswaschen in Wasser färbe man mit Methylenblau.

Zur Untersuchung der Veränderungen der Sporen im Magen der Wirte gibt Auerbach (1910) folgendes in ähnlicher Weise früher von Thélohan (1894) beschriebenes Verfahren an. Ein Holundermarkwürfel wird durch Nadeleinstiche noch poröser gemacht, mit den Sporen ganz durchtränkt, in Seidengaze eingebunden und an einen Faden befestigt mittels einer Glashohlsonde in den Magen der Fische gebracht. Das freie aus dem Maule hervorragende Ende des Fadens wird am Kiemendeckel des Fisches befestigt; so daß der Holundermarkwürfel mit seiner Hilfe jederzeit wieder hervorgezogen werden kann. Zur Untersuchung wird der Würfel teils mit leisem Druck auf einem Objektträger ausgestrichen, ein anderer Teil wird in toto fixiert. Ferner kann man einen mit Sporen durchtränkten Würfel ohne Gaze und Faden in den Magen der Fische bringen und später bei der Sektion der Fische aufsuchen und untersuchen.

Wichtigste Literatur über Cnidosporidien.

1906 Auerbach, M., Ein Myxobolus im Kopfe von *Gadus aeglefinus* L. In: Zoolog. Anzeiger. Bd. 30.

1907a Derselbe, Weitere Mitteilungen über *Myxobolus aeglifini* Auerbach. In: Zoolog. Anzeiger. Bd. 31.

1907b Derselbe, Bemerkungen über Myxosporidien heimischer Süßwasserfische. In: Zoolog. Anzeiger. Bd. 32.

1909a Derselbe, Bemerkungen über Myxosporidien. In: Zoolog. Anzeiger. Bd. 34.

1909b Derselbe, Biologische und morphologische Bemerkungen über Myxosporidien. In: Zoolog. Anzeiger. Bd. 35.

1909c Die Sporenbildung von *Zschokkella* und das System der Myxosporidien. In: Zoolog. Anzeiger. Bd. 35.

1909d Derselbe, Bericht über eine Studienreise nach Bergen. In: Verhandl. naturw. Verein Karlsruhe. Bd. 21.

1910a Die Cnidosporidien. Leipzig. (Hierin eine sehr ausführliche Literaturübersicht.)

1910b Cnidosporidienstudien. In: Zoolog. Anzeiger. Bd. 35.

1908 Awerinzew, S., Studien über parasitische Protozoen I. Die Sporenbildung bei *Ceratomyxa drepanopsettae* mihi. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 14.

1884 Balbiani, E., Leçons sur les Sporozoaires. Paris.

1881 Bütschli, O., Beiträge zur Kenntnis der Fischpsorospermien. In: Zeitschr. wiss. Zoolog. Bd. 35.

1880—82 Derselbe, Sporozoa. In: Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Bd. I. S. 479. (Literatur.)

1905 Caullery et Mesnil, Recherches sur les Actinomyxidies. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 6.

1895 Cohn, L., Über die Myxosporidien aus *Esox lucius* und *Perca fluviatilis*. In: Zoolog. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. 11.

1898 Doflein, F., Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Über Myxosporidien. In: Zoolog. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. 9.

1909 Derselbe, Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena.

1894 Gurley, R., The Myxosporidia, or Psorosperms of Fishes. In: Unit. Stat. Commission of Fish and Fisheries., Washington. Vol. 18 (1882).

1904a Hesse, Edm., *Thélohania légeri* n. sp., Microsporidie nouvelle, parasite des larves d'Anopheles maculipennis Meig. In: C. R. Soc. Biol. Paris. T. 57.

1904b Derselbe, Sur le développement de *Thélohania légeri* Hesse. In: C. R. Soc. Biol. Paris. T. 57.

1905a Derselbe, Sur *Myxocystis mrázeki* Hesse. Microsporidie parasite de *Limnodrilus hoffmeisteri* Clap. In: C. R. Soc. Biol. Paris. T. 58.

1905b Derselbe, Microsporidies nouvelles des Insectes. In: Ann. Université Grenoble. T. 17.

1904 Hofer, Br., Handbuch der Fischkrankheiten. München.

1907 Joseph, H., *Chloromyxum protei.* In: Arch. f. Protistenk. Bd. 8.

1908 Keysselitz, G., Die Entwicklung von *Myxobolus pfeifferi.* I. u. II. Teil. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

1892 Korotneff, A., *Myxosporidium bryozoides.* In: Ztschr. wiss. Zoologie. Bd. 53.

1899 Labbé, A., Sporozoa. In: Das Tierreich.

1902 Laveran, A. et Mesnil, F., Sur la multiplication endogène des Myxosporidies.

1906 Léger, L., Sur une nouvelle maladie myxosporidienne de la Truite indigène. In: Compt. rend. de l'acad. Sc. Paris. Tome 142.

1906 Léger et Hesse, Sur la structure de la paroi sporale des Myxosporidies. In: Compt. rend. de l'Acad. Sc. Paris. Tome 142.

1906a Mercier, L., Phénomènes de sexualité chez *Myxobolus pfeifferi.* In: Compt. rend. Soc. de Biologie. Paris. Tome 60.

1906b Derselbe, Contribution à l'étude du développement des spores chez *Myxobolus pfeifferi.* In: Compt. rend. Soc. de Biologie. Paris. Tome 60.

1906c Derselbe, Sur une Microsporidie du Talitre. In: Compt. rend. Soc. de Biologie. Paris. Tome 61.

1908a Derselbe, Notes sur les Myxosporidies. In: Arch. de Zoolog. expériment. (4). T. 3. Notes et Revue. No. 2.

1908b Derselbe, Néoplasie du tissu adipeux chez des Blattes (*Periplaneta orientalis* L.) parasitées par une Microsporidie. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

1909 Derselbe, Contribution à l'étude de la sexualité chez les Myxosporidies et chez les Microsporidies. In: Mém. Acad. roy. de Belg. 2. série tome III.

1897 Mrázek, A., Über eine neue Sporozoenform aus Limnodrilus. In: Sitzungsber. k böhm. Ges. Wiss. Math.-nat. Kl. Prag. Bd. 8.

1900 Derselbe, Sporozoenstudien II. *Glugea lophii* Dofl. In: Ebenda Bd. 10.

1910 Derselbe, Sporozoenstudien. Zur Auffassung der Myxocystiden. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 18.

1906 Perrin, W. S., Observations on the structure and life-history of *Plistophora periplanetae* Lutz et Splendore. In: Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. 49.

1891 Pfeiffer, L., Die Protozoen als Krankheitserreger. 2. Aufl. Jena 1895. Nachträge.

1904 Plehn, M., Über die Drehkrankheit der Salmoniden. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 5.

1907 Schröder, O., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien. *Sphaeromyxa sabrazesi* Laveran et Mesnil. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 9.

1910 Derselbe, Über die Anlage der Sporocyste (Pansporoblast) bei *Sphaeromyxa sabrazesi* Laveran et Mesnil. In: Ebenda. Bd. 19.

1909 Derselbe, *Thélohania chaetogastris*, eine neue in *Chaetogaster diaphanus* Gruith schmarotzende Microsporidienart. In: Ebenda. Bd. 14.

1910 Schuberg, A., Über Microsporidien aus dem Hoden der Barbe und durch sie verursachte Hypertrophie der Kerne. In: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 33.

1905 Schuberg, A. u. O. Schröder, Myxosporidien aus dem Nervensystem und der Haut der Bachforelle. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 6.

1902 Stempell, W., Über *Thélohania mülleri* (L. Pfr.). In: Zoolog. Jahrb. (Anat.). Bd. 16.

1904 Derselbe. Über *Nosema anomalum* Monz. In: Arch. f. Protistenk. Bd. 4.

1909 Derselbe, Über *Nosema bombycis* Nägeli. In: Ebenda. Bd. 16. (Literatur.)

1895 Thélohan, Recherches sur les Myxosporidies. In: Bull. scient. France Belg. Tome 26. (Literatur.)

Sarcosporidia

Von

Ernst Teichmann Frankfurt a. M.

Als *Sarcosporidia* wird eine Gruppe parasitischer Mikroorganismen bezeichnet, die zur Klasse der *Sporozoa* gerechnet wird. BÜTSCHLI (18) stellt sie als dritte Unterklasse den *Gregarinida* und den *Myxosporidia* an die Seite; DOFLEIN (32) dagegen, der die *Sporozoa* in die beiden Unterklassen der *Telosporidia* und der *Neosporidia* teilt, subsummiert sie den letztgenannten als zweite Ordnung neben den *Cnidosporidia* und den *Haplosporidia*. Die systematische Stellung muß aber so lange ungewiß bleiben, als über die Entwicklungsgeschichte der Sarkosporidien so wenig bekannt ist, wie es heute trotz zahlreicher auf deren Aufklärung gerichteter Untersuchungen noch immer der Fall ist. Das Ergebnis all dieser Studien läßt sich etwa, wie folgt, zusammenfassen.

In der Muskulatur vieler Wirbel- insbesondere Säugetiere finden sich schlauchartige Gebilde von weißlicher Färbung, in denen zahlreiche sichelförmige Körperchen enthalten sind. Diese von F. MIESCHER (90) zuerst — sein Bericht darüber ist vom 16. März 1842 datiert — bei der Hausmaus entdeckten und in der Literatur vielfach nach ihm benannten Schläuche sind von dem Sarcolemma umschlossen und besitzen häufig eine auf Schnitten Querstreifen zeigende dicke Hülle, unter der noch eine zweite, dünne innere Membran zu erkennen ist. Je nach der Tierart, in der die Sarkosporidie schmarotzt, sind deren Gestalt und Größe verschieden. Neben langgestreckten, fadenartigen Formen kommen solche von ovaler und fast kugeliger Gestalt vor, die beim Schaf die Größe einer Haselnuß, beim Reh sogar einen Durchmesser von 50 mm erreichen können. Das Innere der Schläuche wird durch ein System von Kammern gebildet, die nicht miteinander in Verbindung treten; die Wände der Kammern bestehen aus dünnen Membranen, die vielleicht von der inneren Hülle ausgehen. Die Kammern sind angefüllt mit kleinen, meist sichelförmigen Körpern; häufig jedoch sind die mittleren völlig leer, so daß dort auf Schnitten das Bild eines aus feinen Strängen gebildeten unregelmäßigen Maschenwerkes entsteht. Bei allen Tieren, die bisher mit Sarkosporidien behaftet gefunden wurden, scheint ausschließlich die Muskulatur der Sitz der Infektion zu sein. Hiervon machen nach v. WASIELEWSKI (151) das Känguru und nach S. T. DARLING (30) das Opossum, also zwei Marsupialier, eine Ausnahme; bei jenen wurden Sarkosporidien auch in der Submucosa der Eingeweide, bei diesen auch im Bindegewebe, im Darmtrakt, in der Lunge und im Drüsengewebe gefunden.

Trotz der vielen Mühe, die auf die Erforschung des Entwicklungsganges der Sarkosporidie verwandt wurde, ist dieser bisher im Dunkel geblieben. Das Ergebnis

aus all den sich mit ihm beschäftigenden unten aufgeführten Arbeiten läßt sich in wenige Sätze fassen. Nach A. Bertram (9) besteht der Inhalt der jugendlichsten Schläuche der im Schaf parasitierenden *Sarcocystis tenella* aus 0,004 bis 0,005 mm großen Zellen, deren Umrisse nicht überall deutlich hervortreten; in dem feingranulierten Protoplasma liegt ein 0,002 bis 0,003 mm großer Kern (Fig. 1). In älteren Schläuchen sind die Zellen schärfer begrenzt, ihr Protoplasma ist homogen und ihr Kern wird unregelmäßig. In der Mitte

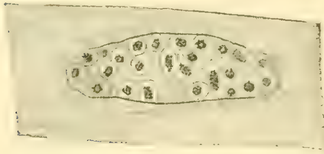


Fig. 1. Jugendliche Sarkosporidie vom Schaf. *k* Kern. Nach Bertram.

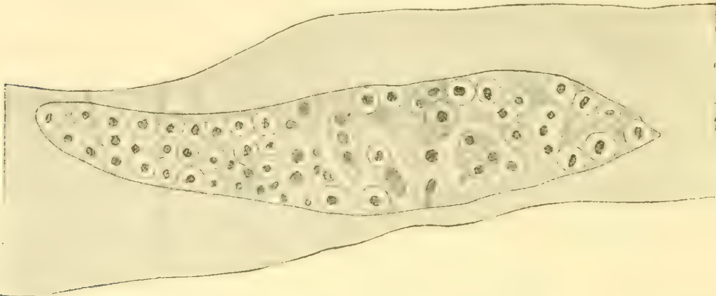


Fig. 2. Ältere Sarkosporidie vom Schaf. In der Mitte und dem oberen Ende die ersten Anfänge von Ballenbildung. Nach Bertram.

und an dem oberen Ende des Schlauches bilden sich nun Ballen dunkler gefärbter Zellen, deren Grenzen undeutlich, deren Kerne dagegen gut zu erkennen sind (Fig. 2). Bei in der Entwicklung weiter fortgeschrittenen Schläuchen finden sich die runden Zellen mit homogenem Protoplasma nur noch an den Enden und Seiten des Schlauches, während die Mitte von zu Ballen vereinigten sichelförmigen Körperchen eingenommen wird; auch die Kammerung beginnt jetzt sichtbar zu werden. Auf noch älteren Stadien nimmt die Menge der sichelförmigen Körperchen nach der Mitte zu mehr und mehr ab; in den zentralen Kammern sind zerfallende und zerfallene Körperchen zu bemerken; bei sehr großen Sarkosporidien wird die Mitte von einem Hohlraum eingenommen, der dadurch zustande kommt, daß die Kammerwände zerreißen und sich kontrahieren. Die der inneren Hülle zunächst liegenden Kammern sind sehr klein und enthalten Zellen mit hellem Protoplasma und großem Kern. Einige Kammern besitzen nur eine ein- oder zweikernige Zelle, andere sind von einer protoplasmatischen Grundmasse mit vielen Kernen erfüllt. An diese schließen sich nach Innen zu Kammern an, die viele kugelige und ovale Zellen mit hellem



Fig. 3. Schnitt durch eine Sarkosporidie vom Schaf. *k* Kammer mit großen rundlichen Zellen in der Nähe der Cuticula. Die Maschenräume in der Umgebung enthalten sichelförmige Körperchen. Nach Bertram.

feinkörnigen Protoplasma und großen Kernen enthalten; diese sind von Räumen mit sichelförmigen Körperchen umgeben (Fig. 3).

Aus diesen Befunden zieht Bertram folgende Schlüsse. Die stellenweise nicht abgegrenzten Zellen stellen die jüngsten Stadien dar und sind als Sporoblastenmutterzellen anzusprechen. Aus ihnen gehen durch Kernteilung und simultanen Zerfall des Plasmas die Zellen mit homogenem Protoplasma und großem Kern, die Sporoblasten hervor. Um sie bilden sich durch Ausscheidung der Gerüstsubstanz die Kammern. Die Sporoblasten lagern sich zu Ballen zusammen und lassen später die sichelförmigen Körperchen aus sich hervorgehen. An den Enden mittelgroßer Schläuche findet fortwährend Zellteilung, Ballenbildung und Wachstum des Schlauches in der Längsrichtung der Muskelfasern, also in der Richtung des geringsten Widerstandes statt. Wird der Widerstand des Sarkolemmas durch die zunehmende Dicke des Schlauches aufgehoben, so spielen sich diese Vorgänge an dessen gesamter Oberfläche ab. Im Zentrum großer Sarkosporidien zerfallen die sichelförmigen Körperchen.

Ähnlich beschreibt F. Doflein (33) den Entwicklungsgang der Sarkosporidie in der Muskulatur. Er bezeichnet die einkernigen feingranulierten kugeligen Zellen als Pansporoblasten. Aus ihnen entstehen durch Teilung zahlreiche fein granulierte blasse Kugeln, die Sporoblasten. Diese wandeln sich in Sporen um, indem sich an dem Sporoblasten eine Membran bildet, sein Kern deutlicher wird und allmählich die definitive Gestalt der Spore hervortritt.

Nach A. Negri (98 III) verläuft der Vorgang bei der Ratten-Sarkosporidie *(Sarcocystis muris)* wesentlich einfacher. Der Autor beschreibt ihn etwa wie folgt. Der in die Muskelfaser eingedrungene Parasit zerfällt sehr früh in Zellen (Sporoblasten), die sich durch Zweiteilung vermehren. Hierdurch wird das Wachstum des Parasiten bedingt. Hat dieser eine gewisse Größe erreicht, so teilt sich jeder Sporoblast in zwei typische Sichelkeime (Sporozoiten). Dieser Prozeß setzt im Zentrum der Sarkosporidie ein und schreitet nach deren Enden hin fort. Sind diese erreicht, so scheinen keine neuen Sporoblasten mehr zu entstehen. Das weitere Wachstum des Schlauches wird durch Zweiteilung der Sporozoiten bewirkt, wie sie von Negri (98 I) bei der Ratten- und Pferde-, von L. v. Betegh (10) bei der Schaf-Sarkosporidie beobachtet wurde. Wie sich diese Teilung vollzieht, hat E. Teichmann (144) für *Sarcocystis tenella* eingehend beschrieben; insbesondere werden die Vorgänge, die sich dabei am Kern abspielen, genau geschildert und als eine eigenartige Form amitotischer Teilung charakterisiert.

Die ausgebildeten Sporen haben die Form kleiner Sicheln. Sie besitzen einen verhältnismäßig großen Kern. Rh. Erdmann (36 37 38) sucht jedoch wahrscheinlich zu machen, daß „der Kern der älteren Autoren" nicht der wirkliche Kern sei. Als solchen glaubt dieser Autor einen kleinen kompakten Körper ansprechen zu sollen, wie er ihn auch in den als Pansporoblasten (Doflein [33]) oder Sporoblastenmutterzellen (Bertram [99]) bezeichneten jüngeren Entwicklungsstadien findet. Dieser kleine Kern soll in dem Bereich der „runden Körper der Autoren" liegen, die Erdmann als metachromatisch bezeichnet, sich aber von diesen dadurch unterscheiden lassen, daß er sich bei polychromer Methylenblaufärbung „mehr blau als rot" färbt und in den älteren Sichelstadien „mit sehr hoher oder mit sehr tiefer Einstellung sichtbar wird" (37 S. 246). „Der Kern der älteren Autoren ist" nach Erdmann „der Fadenapparat". Von einigen Forschern wird nämlich angegeben, daß sich von dem einen Pol der fertigen Keime eine spiralige Zeichnung in das Innere der Sichel verfolgen lasse. Diese Bildung wird als Polfaden gedeutet, der in einer Kapsel liege. Unter gewissen Umständen soll der Faden aus der Kapsel austreten. Van Eecke (34) hat Sporen mit solchen Fäden abgebildet; seine Bilder wirken

aber wenig überzeugend. Auch v. Wasielewski berichtete in der Diskussion zu M. Kochs Vortrag (56), er habe das Austreten der Fäden aus einem Pol der Körperchen beobachtet. Neuestens tritt St. v. Rátz (121) wieder dafür ein, daß die Sporen an einem Pol eine Kapsel mit Faden enthalten; er glaubt auch vor dem Kern ein Körperchen nachgewiesen zu haben, das er als „Blepharoblast, Centrosoma oder Nukleocentrosoma" betrachtet, und meint, danach wären die Sarkosporidien den Cnidosporidien und zwar der Gruppe der Nosematiden an die Seite zu stellen. Doch dürfte durch dieses Forschers Angaben die Frage nach dem Polfaden ebensowenig entscheidend beantwortet sein, wie das durch die in den Publikationen Erdmanns (36 37 38) enthaltenen Bemerkungen geschieht.

Ist schon die Entwicklung der Sarkosporidie im Muskel nicht zufriedenstellend aufgeklärt, so muß, was über die sonstigen Schicksale des Parasiten bekannt geworden ist, als ganz dürftig bezeichnet werden. Was die Art der Infektion anlangt, so wird die Ansicht, daß der Parasit durch einen Zwischenwirt übertragen wird, wie sie Th. Kasparek (52) vertritt, durch die sich mehrenden Berichte von gelungener Übertragung durch Verfütterung zwar nicht widerlegt, verliert aber an Wahrscheinlichkeit. Nachdem zuerst Th. Smith (137) durch Verfüttern infizierten Materials Sarkosporidiose bei Mäusen hervorgerufen hatte, bedienten sich auch andere Forscher der gleichen Übertragungsweise mit Erfolg. L. Nègre (95) gibt an, daß die Fäces infizierter Mäuse imstande sind, Sarkosporidiose bei bis dahin gesunden Tieren hervorzurufen. Bemerkenswert ist, daß A. Negri (98 I) die Rattensarkosporidie auf Meerschweinchen, bei denen bisher natürliche Sarkosporidiose nicht festgestellt worden ist, und Rh. Erdmann (36) die Schafsarkosporidie auf Mäuse übertragen konnten. Auch J. T. Darling (29) hat Meerschweinchen mit *Sarcocystis muris* infiziert und wie Negri konstatiert, daß die Sarkosporidien dabei erhebliche Veränderungen erleiden. Dieselbe Beobachtung machte dieser Autor, als er die von ihm entdeckte Sarkosporidie des Opposums (37) auf Meerschweinchen durch Verfütterung übertrug. A. Bertram (9) hält es für wahrscheinlich, daß die natürliche Infektion nur bei jüngeren Tieren möglich sei, da sich bei diesen die Jugendstadien des Parasiten finden, während bei älteren Tieren nur ausgebildete Formen vorkommen. Allerdings notiert dieser Autor auch den Fall eines älteren Schafes, bei dem zwei sehr kleine, also jugendliche Schläuche ohne sichelförmige Körperchen vorhanden waren. Die untersuchten Lämmer waren von der Geburt bis zum Tode auf der Weide, so daß die Infektion dort stattgefunden haben mußte. Die behüteten Wiesen werden als trocken, mit Klee und Süßgräsern bestanden bezeichnet; von den zum Trinken dienenden Wasserlöchern wird angegeben, sie hätten morastigen Grund. Eine andersartige Beobachtung, die gegen die Annahme der Übertragung durch einen Zwischenwirt zu sprechen scheint, ist hier noch zu erwähnen. E. Teichmann (143) hat festgestellt, daß das Serum des Kaninchens imstande ist, die Sporozoiten der Schafsarkosporidie aufzulösen. Wenn, was wahrscheinlich sein dürfte, auch das Serum der Muttertiere selbst solch lytische Eigenschaft besitzt, so ist es nicht sehr wahrscheinlich, daß die Sarkosporidien die Blutbahn benützen können, um in die Muskulatur, in der die Schläuche gefunden werden, einzudringen. Sollte also ein Überträger im Spiel sein, so könnte wohl nur ein solcher in Frage kommen, der die Keime mit der Blutbahn des zu infizierenden Tieres nicht in Berührung bringt. Offenbar tritt die Infektion sehr leicht ein. Bertram (9) hat bei 182 von 185 untersuchten Schafen Sarkosporidien gefunden. M. Braun (15) gibt an, daß an manchen Orten die Zahl der befallenen Tiere 100 % beträgt. J. Kühn (63) hat bei 98,5 % der von ihm untersuchten Schweine Sarkosporidien festgestellt.

Nach alledem darf mit einem gewissen Grad von Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß die Infektion per os stattfindet. Über etwaige Entwicklungsvorgänge aber, die sich auf dem Wege vom Darm zur Muskulatur abspielen, ist wenig bekannt.

ERDMANN (36 38) macht einige Angaben hierzu. Danach quillt der sichelförmige Körper, sobald er in den Magen gelangt, stark auf, und es tritt ein „Polfaden" aus. Am zehnten Tage nach der Fütterung wurden in den Zotten und im Lumen des Darmes „runde Körper mit Protoplasmasaum" und „kleine amöboide Formen" gefunden. Etwa zwischen dem 14. und 20. Tage traten dort einkernige amöboide Formen auf, ferner gleiche Stadien mit 12 und 4 Kernen, die besonders oft in Lymphspalten der Darmmuskulatur vorhanden waren. Durch die Lymphwege gelangen die vierkernigen Gebilde, nachdem sie sich in vier Teile geteilt und je mit einer Hülle umgeben haben, in die Fettgewebe und in die Lymphspalten der Körpermuskulatur. Dort wurden in der 5. Woche nach der Fütterung reichlich kleine runde Cysten mit protoplasmatischem Inhalt beobachtet. Auch ein einzelliges Stadium mit zwei Kernen wurde gesehen.[1])

Von den Formen aus dem Darmlumen und den Lymphspalten sagt ERDMANN selbst, sie könnten vorläufig noch nicht mit voller Sicherheit in den Entwicklungskreis der Sarkosporidie eingereiht werden. L. NÈGRE (96) hat im Duodenum einer mit Sarkosporidien behafteten Maus nahe dem Magen in der Mucosa eine 30 bis 25 μ messende Protozoencyste gefunden, in der sich 9 bis 10 protoplasmatische Massen von anscheinend unregelmäßiger Gestalt befanden. Die Cyste war im Begriff in die Bauchhöhle zu fallen, in der noch andere schon freie Cysten gefunden wurden. NÈGRE glaubt hiermit das „intestinale Stadium" der Sarkosporidie gefunden zu haben. Trotzdem darf wohl gesagt werden, daß selbst der in dem befallenen Tier sich vollziehende Abschnitt des Entwicklungsganges der Sarkosporidie nur zum Teil aufgeklärt ist.

Die Zahl der Tierarten, bei denen Sarkosporidien gefunden wurden, ist ziemlich groß. Doch scheinen nur Wirbeltiere und unter ihnen besonders Säuger befallen zu werden. Soweit ich sehe, sind bisher folgende Tiere als Wirte des Parasiten genannt worden: Hausmaus, Reh, Rind, Schaf, Ratte, Schwein, Pferd, Hund, Katze, Maskenschwein, Kaninchen, Affe, Ziege, Büffel, Hirsch, Känguru, Seehund, Hase, Lama, Opossum, Haushuhn, Schwarzamsel, Rabe, Gecko, Mauereidechse. Auch der Mensch scheint gelegentlich befallen zu werden. Im allgemeinen sind die Krankheitserscheinungen, die durch den Parasiten hervorgerufen werden, nicht schwer. Nur Mäuse sollen der Infektion regelmäßig erliegen. Immerhin wird von einzelnen Fällen berichtet, in denen durch den Parasiten mehr oder weniger erhebliche Schädigungen des befallenen Tieres bewirkt wurden. So soll er beim Pferde ziemlich weitgehende Zerstörungen der Muskulatur hervorrufen. Schafe sollen infolge starker Ausdehnungen der Sarkosporidienschläuche in der Nähe der Atemwege erstickt sein. Schweine sind häufig sehr stark infiziert, und zwar wird fast die gesamte Körpermuskulatur befallen. Es wird angegeben, daß besonders in den hinteren Extremitäten Lähmungserscheinungen vorkommen. Jedenfalls wird das Muskelfleisch bei massenhafter Infektion erheblich verändert; es wird gallertartig und sieht sich glasig an. Diese Veränderungen können so stark werden, daß das Fleisch für den Genuß unbrauchbar wird, so daß es vernichtet werden muß. Bei weniger ausgesprochener Schädigung wird das Fleisch immerhin für minderwertig erklärt und der Freibank übergeben.[2]) Häufig verkalken die Schläuche in der Muskulatur des Schweines und können dann als feine weißliche Streifen mit

[1]) ERDMANN (36) bezieht sich dreimal auf ein von BERTRAM (9) beschriebenes Zweizellenstadium und meint damit offenbar die von diesem Autor auf seiner Tafel 2 abgebildete Figur 15. Allein diese Figur gibt einen Querschnitt durch eines der Enden eines Sarkosporidienschlauches wieder, auf dem nur zwei Zellen getroffen sind, während der Inhalt des ganzen Schlauches natürlich aus vielmehr Zellen bestand.

[2]) Diese Angaben verdanke ich der Freundlichkeit des Obertierarztes am Städtischen Schlachthaus zu Frankfurt a. M. Herrn Dr. J. NEUBAUER.

bloßem Auge wahrgenommen werden. A. Bertram (9) beschreibt den Vorgang wie folgt: Zuerst zerfallen die sichelförmigen Körperchen, wobei deren Kern am längsten Widerstand leistet. Schließlich bleibt in den Kammern nur noch eine feinkörnige Masse zurück. Ist die Cuticula nicht mehr intakt, so scheinen Leukocyten in den Schlauch einzuwandern und die noch vorhandenen Teile zu beseitigen. Daß auch beim Schaf Verkalkung der Schläuche vorkommt, gibt L. Pfeiffer (109) an. Auch E. Teichmann (144) hat derartige Cysten nicht selten beobachtet. Meistens handelt es sich um Tiere, die mit vielen und sehr großen Schläuchen behaftet waren. Unter diesen fallen manche durch ihre gelbliche Farbe auf; sie fühlen sich hart an, erweisen sich als völlig verkalkt und können die Größe einer Erbse erreichen.

Was nun das Vorkommen von Sarkosporidien beim Menschen anlangt, so figurieren in der Literatur sieben von verschiedenen Autoren herrührende Angaben.

1. Die älteste stammt aus dem Jahre 1863 und rührt von K. Lindemann in Moskau her (79). Er behauptet, daß durch „Gregarinen", die er auch „Psorospermien" nennt, Hydrops hervorgerufen werde, und zwar in der Weise, daß sich die Parasiten in den Herzmuskeln entwickeln und daselbst Kolonien bilden, die das Aussehen bräunlicher Knoten von 3 mm Länge und ½ mm Höhe hatten. Durch die Vermehrung solcher Kolonien nehme die Elastizität der Muskulatur ab, die Klappen zerrissen und die so entstandenen Öffnungen verursachten Unregelmäßigkeiten in der Blutzirkulation und in deren Folge allgemeinen Hydrops. Die mikroskopische Untersuchung des Herzens ergab folgendes: An Stelle quergestreifter Muskulatur waren die Fasern mit einer durchsichtigen Gallertmasse erfüllt, in der Psorospermien schwammen, von denen viele Keimkörperchen enthielten, die den höchsten Grad der Reife erreicht hatten (Pseudonavicellen). Einige Muskelfasern waren ganz und gar mit Psorospermien angefüllt. An manchen Stellen waren die Kolonien mit kohlensaurem Kalk infiltriert; solche „verkreidete" Kolonien waren mit bloßem Auge sichtbar. Daß es sich hier nicht um Gregarinen handelt, die bei Vertebraten bisher überhaupt nicht gefunden wurden, ist zweifellos. Welcher Art aber die beobachteten Parasiten zuzurechnen sind, wird schwer festzustellen sein. M. Braun (16) meint, es könnten wohl Sarkosporidien vorgelegen haben, bezweifelt aber, ob es sich überhaupt um „selbständige tierische Organismen" gehandelt habe. Jedenfalls schwebt über der Lindemann'schen Darstellung eine solche Unklarheit, daß sie für das Vorkommen von Sarkosporidien beim Menschen kaum ins Feld geführt werden kann.

2. Mit noch größerer Bestimmtheit darf gesagt werden, der von B. Rosenberg (128) in Moskau beschriebene Fall sei kein Beweis dafür, daß der Mensch von Sarkosporidien befallen wird. Dieser Autor gibt an, er habe im Herzen einer Frau eine länglich ovale Cyste von 5 mm Länge und 2 mm Breite gefunden, die parallel dem größten Mitteldurchmesser und genau in der Mitte seiner Dicke lag. Im Momente des Durchschnitts der Cyste entleerte sich aus ihr ein Tropfen klaren Serums. Schon dieser Umstand spricht dagegen, daß hier ein Sarkosporidienschlauch vorlag. Die Abbildungen aber, die Rosenberg gibt, und die eine große Mannigfaltigkeit ganz verschiedengestaltiger Körperchen zeigen, unter denen höchstens drei eine gewisse Ähnlichkeit mit den Sporozoiten der Sarkosporidien haben, machen es fast zur Gewißheit, daß die als einzige gefundene Cyste keine Sarkosporidie war.

3. Wenig ergiebig ist, was Robert Koch und Georg Gaffky (58) in dem Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Cholera entsandten Kommission mitteilen. Bei zwei in Alexandrien sezierten Leichen wurden „größere eigentümliche Parasiten, welche für Psorospermienschläuche angesprochen wurden", gefunden, die „langgestreckte rundliche Körper" enthielten. In einem Fall saßen die Schläuche in der Niere, im anderen in der Wandung des Dünndarms.

4. Kartulis (51) in Alexandrien führt die Entstehung eines Leberabszesses, an

dem ein 36 jähriger Sudanese starb, auf Sarkosporidien-Infektion zurück. Er fand in der Bauchmuskulatur, die mit der Leber so zusammenhing, daß eine Höhle gebildet wurde, deren Wandungen nach außen aus den verdickten Bauchmuskeln, nach innen aus der Leber bestanden, runde oder zylindrische Körper, die eine dicke hyaline Kapsel mit grobkörnigem Inhalte darstellten, der in einigen Exemplaren aus nur runden Kügelchen, in anderen aus nieren- und sichelförmigen Körperchen gebildet wurde. Auch im Lebergewebe wurden zahlreiche „gewundene Schläuche (Gregarinen)" verschiedener Größe mit grobkörnigem Inhalt beobachtet, die teils aus runden, teils aus solchen Körpern bestanden, die in Größe und Gestalt den Coccidien der Kaninchen sehr ähnlich waren. Schließlich wurden auch in der Muskulatur des Darmes zwei Schläuche gefunden. Dieser Befund weicht von dem, was sonst über das Vorkommen von Sarkosporidien bekannt geworden ist, insofern ab, als hier in erster Linie die Leber der Sitz der Infektion ist. Daß auch die angrenzende Bauchmuskulatur befallen wurde, scheint sich aus der engen Beziehung zu erklären, die sich zwischen ihr und jenem Organ im Verlauf der Abszeßbildung hergestellt hatte. Da nun die beigegebenen Abbildungen nicht ausreichen, um jeden Zweifel darüber zu beseitigen, daß es sich wirklich um Sarkosporidiose handelt, und da der Autor selbst auf die Ähnlichkeit gewisser Formen mit Coccidien hinweist, die ja typische Leberparasiten sind, so darf immerhin die Vermutung nicht von der Hand gewiesen werden, daß auch in diesem Fall Sarkosporidien nicht als Ursache der Erkrankung in Betracht kommen. Jedenfalls wird ein gelinder Zweifel darüber, ob KARTULIS wirklich Sarkosporidien in der Leber des Menschen gesehen hat, bestehen bleiben, auch trotz der Erklärung von M. BRAUN (16).

5. BARABAN et SAINT-REMY (2) haben in den Muskelfasern des Kehlkopfes eines Hingerichteten „tubes psorospermiques" gefunden. Die Cysten hatten die Form langer an ihren Enden zugespitzter Zylinder. Sie besaßen eine dünne Membran, die sich an den Enden etwas verdickte, und eine Masse von stäbchenförmigen leicht gekrümmten „Pseudonavicellen". Diese Körperchen gruppieren sich, wie auf Schnitten zu sehen ist, zu kleinen polygonalen Inselchen entsprechend den Sporen, aus denen sie hervorgingen. Eine Cyste, die in einer nicht kontrahierten Faser lag, maß 1,6 zu 0,077 mm; andere waren 0,15 und 0,168 mm breit. Die den Parasiten einschließende Faser bildet eine gestreifte muskuläre Wand um ihn, die manchmal 0,003 mm dick ist. Der Durchmesser solcher Fasern ist viermal größer als der ihrer normalen Nachbarinnen. Die sich an den Ecken etwas verdickende dünne Cystenmembran zeigt dort eine undeutliche Streifung. Daß diese Mikroorganismen schwere Schädigungen hätten herbeiführen können, ist schon wegen ihrer geringen Zahl ausgeschlossen; auf einen Querschnitt durch den Kehlkopf wurden kaum ein Dutzend Cysten gezählt. Die Art wird für identisch gehalten mit jener, die ziemlich häufig bei verschiedenen Haussäugetieren (Rind, Schaf) getroffen wird; sie wird fälschlich nach der Klassifizierung R. BLANCHARD's (12) als *Miescheria muris* bezeichnet.

6. Diese Angabe wird von P. VUILLEMIN (149) rektifiziert, der die Präparate SAINT-REMYs prüfen und mit denen vergleichen konnte, die ihm von HOCHE überlassen worden waren, und die von einem an Tuberkulose Gestorbenen stammten. VUILLEMIN stellte fest, daß es sich beide Male um *Sarcocystis tenella* RAILLIET, die Schafsarkosporidie handelte. Beide Fälle stammten übrigens aus Nancy. Die Sarkosporidie war von einer Cuticula umgeben, die aus zwei Lagen bestand; die innere war sehr fein, die äußere, 0,002 bis 0,0025 mm dick, zeigte Strichelung. Die anfänglich gleichartigen Zellen im Innern der Schläuche differenzieren sich in fertile und sterile Zellen. Als sterile, der Degeneration verfallene Elemente werden die zwischen den Ballen liegenden Zellen mit homogenem Protoplasma betrachtet, die A. BERTRAM (9) als Sporoblasten bezeichnet. Nach VUILLEMIN ist diese Auffassung nicht haltbar; vielmehr gehen sowohl die BERTRAMschen Sporoblasten als auch die sich zu Ballen zusammenlagern-

den Zellen aus den fein granulierten Elementen, die Bertram Sporoblastenmutterzellen nennt, hervor; sie sind demnach Schwesterzellen. Sarcocystis tenella ist nach Vuillemin's Ansicht ein häufiger Parasit des Menschen.

7. Der jüngste Fall von Sarkosporidiose beim Menschen ist von S. T. Darling (28 29) ermittelt worden. Im rechten und linken Biceps eines Negers von Barbados wurden, und zwar in lebendem Gewebe, Sarkocysten gefunden, die aber innerhalb einer Periode von 4 Monaten wieder verschwanden. Die Keime ähnelten den Sarkosporidien, die bei experimentell infizierten Meerschweinchen gefunden wurden (Negri [98 1] und Darling [29]). Beide entwickeln sich, wie es scheint, sagt Darling, ohne Bildung von Kammern, besitzen denselben Umfang und stellen einen abortiven oder aberranten Typ dar, dessen Gestalt durch den Aufenthalt in einem ungewöhnlichen Wirt bedingt wird. Es wird vermutet, daß sich der Neger durch den Genuß rohen Fleisches infiziert habe.

Dem Stand der Dinge, wie er sich in den vorliegenden Arbeiten ausdrückt, dürfte es entsprechen, wenn deren Ergebnisse in folgender Weise zusammengefaßt werden: Daß der Mensch von Sarkosporidien befallen wird, darf nach den Angaben von Baraban und Saint-Remy, Vuillemin, Darling, wohl auch von R. Koch und vielleicht noch von Kartulis als gewiß gelten. Daß solche Infektionen häufig vorkommen, ist nicht anzunehmen, obgleich Vuillemin dies anzunehmen geneigt ist; auch scheint keine schwere Schädigung durch sie hervorgerufen zu werden.

Eine bemerkenswerte Eigenschaft der Sarkosporidien besteht darin, daß sie ein auf bestimmte Tiere außerordentlich heftig wirkendes Gift enthalten. Die erste Angabe hierüber machte L. Pfeiffer (108) im Jahre 1890. Nach ihm rief die Infektion frischer Sarkosporidien des Schafes im Serum dieses Tieres bei Mäusen, Kaninchen und Schafen Erkrankung und meistens Tod „unter tetanischen Erscheinungen" hervor. Auch Th. Kasparek (52) will bei Mäusen und Meerschweinchen durch subkutane Einspritzung von Schafsarkosporidien den Tod herbeigeführt haben. Eingehender haben sich dann A. Laveran und F. Mesnil (70) mit der Untersuchung dieses einzigen bisher bekannt gewordenen Protozoengiftes beschäftigt. Sie bezeichneten es als „Sarkocystine". Zu ihren Versuchen benützten sie wässerige und Glycerinextrakte aus frischen und ausgetrockneten Sarkosporidien. Bei subkutaner Injektion von 0,001 g frischer Sarkosporidien pro Kilogramm Körpergewicht trat bei Kaninchen nach 5 bis 10 Stunden Exitus ein. Ratte, Maus, Schaf, Frosch, Schildkröte reagierten nicht; beim Huhn und der Taube trat nach „starker Dosis" Gewichtsverlust ein. Durch Erhitzung wurde das Gift, das sie als Toxin bezeichnen, seiner Wirksamkeit beraubt. Auch Rievel und Behrens (124) haben eine Reihe von Versuchen mit Sarkosporidiengift ausgeführt. Sie benutzten dazu die Sarkosporidie des Lamas, die sie in Kochsalzlösung suspendiert Kaninchen subkutan einspritzten. Die Wirkung des Giftes zeigte sich nach etwa 2½ bis 3 Stunden. Die Versuchstiere hocken still da und atmen erschwert und angestrengt. Nach 6 Stunden erfolgen 100 Atemzüge in der Minute; das Haar ist gesträubt; der Kopf wird auf den Boden gestützt; die Sensibilität, besonders der hinteren Extremitäten, ist erheblich vermindert; der Puls ist nicht mehr zu fühlen; die Herztätigkeit ist stark beschleunigt; die Temperatur sinkt, der Tod tritt ohne Todeskampf ein. Über die Natur des Giftes äußern sich die genannten Autoren dahin, daß es sich um eine Substanz mit schwach saueren Eigenschaften handele, die von Eiweißkörpern begleitet oder locker an sie gebunden sei, die sich durch Ausfällen mit Essigsäure von ihr trennen lassen. Sie halten dafür, daß das Gift den Enzymen nahe stehe und auf das Zentralnervensystem lähmend wirke. Rievel und Behrens haben zwar die Immunisierung von Kaninchen nicht durchgeführt, doch scheint sie ihnen möglich zu sein.

Eingehender hat E. Teichmann (143) das Gift der Sarkosporidien untersucht. Er benutzte ausschließlich *Sarcocystis tenella*, die er getrocknet in Kochsalzlösung

aufgeschwemmt den Versuchstieren subkutan aber intravenös injizierte. Er gelangte zu folgenden Ergebnissen: Ratten und Meerschweinchen erwiesen sich als völlig widerstandsfähig gegen das Gift; weniger trifft das wohl für Mäuse zu, während Kaninchen außerordentlich empfindlich sind. Für Kaninchen ist die in 0,0002 g Trockensubstanz enthaltene Giftmenge als letal zu betrachten. Das Gift wird im Zentralnervensystem lokalisiert und an dessen Lipoide gebunden. Es läßt sich durch Anwendung von Äther, Aqua destillata oder Alkohol bei gleichzeitiger Alkalisierung mit Natronlauge aus dem Gehirn zurückgewinnen. Die Giftigkeit der Sarkosporidiensubstanz wird durch Vereinigung mit Lezithin herabgesetzt; ebenso erfolgt eine Abschwächung, wenn es mit Schafserum oder Serum immunisierter Kaninchen gemischt wird. Die aktive Immunisierung von Kaninchen gelingt, wenn die ersten Dosen klein genommen und in weiten Abständen eingegeben werden. Auch scheint es möglich zu sein, Kaninchen mit getrockneter Nervensubstanz vergifteter Tiere zu immunisieren. Durch Vorbehandlung mit dem Serum vergifteter Tiere wurde keine Immunität erzielt. Doch scheint dem Immunserum ein gewisser Schutzwert zuzukommen. Dagegen gelang es nicht, erkrankte Tiere durch Nachbehandlung mit Immunserum zu retten. Weder das Blut des Schafes, noch das des Kaninchens wird durch Sarkosporidien gelöst; dagegen scheint Serum auf Sarkosporidien lytisch zu wirken. Protozoen wie Paramäcium und Colpidium sind gegen das Gift unempfindlich; sie vermögen es ohne Schädigung in ihren Körper aufzunehmen.

Die Fragen, die die zuletzt erwähnte Arbeit noch offen ließ, sind durch E. Teichmann und H. Braun (145) beantwortet worden. Sie stellten fest, daß die Schafsarkosporidie ein echtes Toxin enthält, dem sie den Namen Sarkosporidiotoxin gaben. Dieses Toxin erzeugt im Kaninchenorganismus Antitoxin. Das wird bewiesen 1. dadurch, daß sich Kaninchen immunisieren lassen; 2. dadurch, daß durch das Serum immunisierter Kaninchen die Immunität passiv übertragen werden kann und zwar sowohl bei Mischung des Giftes mit dem Serum in vitro als auch bei gleichzeitiger Injektion beider in den Tierkörper; 3. dadurch, daß das Gesetz der Multipla für das Sarkosporidiotoxin und sein Antitoxin Gültigkeit besitzt. Ferner stellten Teichmann und Braun fest, daß das Sarkosporidotoxin ausflockend auf die Blutkörperchen vom Hund, Meerschweinchen, Mensch, Pferd und Taube wirkt, dagegen nicht auf Kaninchenblut. Der Stoff, der die Ausflockung bedingt, ist aber nicht mit dem Toxin identisch. Schließlich ist noch zu erwähnen, daß in dem Immunserum komplementbindende Antikörper gegen Sarkosporidienextrakt nachgewiesen wurden.

Die Literatur über Sarkosporidien ist überaus umfangreich. Die nachfolgende Liste dürfte alles Wichtige ziemlich vollständig enthalten. Doch ist es nicht ausgeschlossen, daß eine oder die andere ältere, den Gegenstand berührende Arbeit, zumal aus der tiermedizinischen Literatur fehlt. Da nämlich Sarkosporidien früher vielfach mit anderen protozoischen Parasiten identifiziert wurden, ist es nicht unmöglich, daß Arbeiten, in deren Titel etwa Trichinen, Gregarinen oder Coccidien genannt werden, sich auch auf Sarkosporidien beziehen. In der älteren Literatur wird häufig die auf Johannes Müller zurückgehende Bezeichnung „Psorospermien“ gebraucht,[1]) worunter aber sehr verschiedenartige Organismen zusammengefaßt werden. Hier sind Arbeiten über „Psorospermien“ nur dann aufgeführt, wenn aus ihrem Inhalt deutlich wird, daß sie sich mit Sarkosporidien beschäftigen. Des weitern wurden Untersuchungen über „parasitische Schläuche“, wie sie sich bei Rotatorien, Arthropoden und Fischen finden, in die nachstehende Liste nicht aufgenommen; sie werden heute von den Sarkosporidien geschieden und bei den Myxo-

[1]) Psorospermien von ψώρα = Räude, Krätze und σπέρμα = Samen.

sporidien, Mikrosporidien oder Haplosporidien untergebracht. Die bekannten Lehrbücher der Zoologie aufzuzählen, in denen auch der Sarkosporidien kurz Erwähnung getan wird, durfte unterbleiben.

Bibliographie der Sarcosporidia

Abgeschlossen im Mai 1911

Einige wenige Arbeiten blieben mir unzugänglich; sie sind durch ein * kenntlich gemacht.

1. Balbiani, G. Leçons sur les Sporozoaires. Paris 1884 (vgl. S. 106 ff.).
2. Derselbe Les Sporozoaires. Journal de Micrographie. 6. et 7. Année 1882 u. 1883 (vgl. 7. Année S. 82 ff.).
3. Baraban, L. et Saint-Remy, G. Sur un cas de tubes psorospermiques observés chez l'homme. Compt. rend. Soc. Biol. Paris 1894 S. 201 ff.
4. Derselbe Le parasitisme des Sarcosporidies chez l'homme. Bibliographie Anatomique Bd. II 1894 S. 79 ff. 1895.
5. Baransky, A. Miescher'sche Schläuche oder Rainey'sche Körper. Österreichische Vierteljahrsschrift f. wiss. Veterinärkunde Bd. LI S. 81 ff. 1879.
6. Beale, L. S. The Microscope in Medicine. Fourth Edition London 1878 (vgl. S. 485 ff.).
7. Derselbe Entozoa (?) in the Muscles of Animals destroyed by Cattle Plague. The Medical Times and Gazette Bd. I for 1866 S. 57 ff.
8. Behla, R. Über die systematische Stellung der Parasiten der Miescher'schen Schläuche und deren Züchtung. Berl. Tierärztl. Wochenschr. S. 564 ff. 1897.
9. Bertram, A. Beiträge zur Kenntnis der Sarkosporidien. Nebst einem Anhange über parasitische Schläuche in der Leibeshöhle von Rotatorien. Zoolog. Jahrb. Abt. f. Anatomie Bd. V S. 581. 1892.
10. Betegh, L. v. Beiträge zum Entwicklungsgang der Sarkosporidien. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Bd. LII S. 566 ff. 1909.
11. Blanchard, R. Sarcosporidies. In Ch. Bouchard Traité de Pathologie générale Bd. II S. 684 ff. Paris 1896.
12. Derselbe Notes sur les Sarcosporidies et sur un essai de classification de ces Sporozoaires. Bull. de la Société Zoologique de France Bd. X S. 244 ff. 1885.
13. Derselbe Sur un nouveau type de Sarcosporidies. Compt. rend. Ac. Sc. Paris Bd. C S. 1599 ff. 1885 u. Compt. rend. Soc. Biol. S. 417 ff. 1885.
14. Boettcher, A. Verschiede Mitteilungen. 4. Zur Kenntnis der Rainey'schen Schläuche. Arch. f. pathol. Anatomie Bd. XLVII S. 370 ff. 1869 (vgl. S. 375 ff.).
15. Braun, M. Die tierischen Parasiten des Menschen. 4. Auflage. Würzburg Curt Kabitsch 1908.
16. Derselbe Zum Vorkommen der Sarcosporidien beim Menschen. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Bd. XVIII S. 13. 1895.
17*. Bulloch, W. Psorospermosis. In Allbut and Rolleston System of Medicine. Bd. II Teil 2 1907 (vgl. S. 828).
18. Bütschli, O. Protozoa. 1. Abt. S. 604 ff. In Dr. H. G. Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs Bd. 1 Leipzig u. Heidelberg C. F. Winter'sche Verlagshandlung 1880—1882.
19. Chatterjee, G. C. A. Sporozoon (*Sarcocystis*, sp.) from the Heart of a Cow in Calcutta. Records of the Indian Museum Bd. I 1907 S. 77 ff. Calcutta 1907.
20. Cobbold, T. Sp. Remarks on Spurious Entozoa found in Diseased and Healthy Cattle. The Lancet 1861 Bd. I S. 88 ff.

21. Cobbold, T. Sp. Microscopic bodies from the muscles of diseased cattle. Trans. Pathol. Society of London Bd. XVII S. 452 1866.
22. Derselbe On worm-like organisms found within the mitral valve of a horse. The Veterinarian Bd. L S. 608 ff. 1877.
23. Derselbe Parasites. A Treatise on the Entozoa of Man and Animals. London 1879 (vgl. S. 276 ff.; 414).
24. Cohn, E. Über unsere Kenntnis der mit dem Carcinom in ursächliche Verbindung gebrachten tierischen und pflanzlichen Mikroorganismen. Zeitschr. f. klin. Medizin Bd. LVI S. 69 ff. 1905 (vgl. S. 77 ff.).
25. Crawley, Howard Coelosporidium blattellae, a new Sporozoan Parasite of Blattella germanica. Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia Bd. LVII S. 158 ff. 1905.
26. Derselbe Interrelationships of the Sporozoa. The American Naturalist Bd. XXXIX S. 607 ff. Boston 1905.
27. Dammann, C. Ein Fall von Psorospermienkrankheit beim Schafe. Arch. f. patholog. Anatomie Bd. XLI S. 283 ff. 1867.
28. Darling, S. T. Sarcosporidiosis with report of a case in Man. Arch. of Internal Medizine 1909 (April)S. 1 ff.
29. Derselbe Experimental Sarcosporidiosis in the Guinea-Pig and its relation to a case of Sarcosporidiosis in Man. Journal of Experimental Medicine Bd. XII Nr. 1. S. 19 ff. 1910.
30. Derselbe Sarcosporidiosis in the opposum and its experimental production in the Guinea pig by the intra-muscular injection of sporozoites. Extrait du Bulletin de la Société de Pathologie Exotique 1910 Bd. III Nr. 8 S. 513 ff.
31. Delage, Y. et Hérouard, E. Traité de Zoologie concrète. Bd. I La Cellule et les Protozoaires. Paris 1896 (vgl. S. 289 ff.).
32. Doflein, F. Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena Gustav Fischer 1901.
33. Derselbe Lehrbuch der Protozoenkunde. S. 803 ff. Jena Gustav Fischer 1909 [1]).
34. Eecke, J. van Sarcosporidiën (Balbiani). Geneeskundig Tijdschrift voor Nederlandisch-Indië Deel 32 S. 363 ff. 1892/93.
35*. Derselbe Sarcosporidien. Jaarsverlag Labor. path. An. en Bact. te Weltewreden [1892] S. 37 ff. Batavia 1893; und: Bladen van Veeartsnijkunde Nederl. Indië Bd. IV S. 178 1892.
36. Erdmann, Rh., Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Hammelsarkosporids in der Maus. Centralbl. f. Bact. Abt. 1 Bd. LIII S. 510 ff. 1910.
37. Dieselbe Kern und metachromatische Körper bei Sarkosporidien. Archiv f. Protistenkunde Bd. XX S. 239 ff. 1910.
38. Dieselbe Die Entwicklung der *Sarcocystis muris* in der Muskulatur. Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde 1910 Nr. 8 S. 377 ff.
39. Eve, Frederics Psorospermial cysts of both ureters. Transactions of the Pathological Society of London Bd. XL S. 444 1889.
40. Ferret, P. Observations relatives au développement de la cuticule chez le *Sarcocystis tenella*. Arch. d'Anatomie microscopiques Bd. VI S. 86 ff. 1903—1904.
41. Derselbe L'évolution de la cuticule du *Sarcocystis tenella*. Compt. rend. Soc. Biol. Bd. LV S. 1054 ff. 1903.
42. Fürstenberg, M. H. Die Miescher'schen Schläuche. Mitteilungen aus dem Naturw. Vereine Neu-Vorpommern und Rügen 1. Jahrg. S. 41 ff. Berlin 1869.
43. Gerlach, A. C. Die Trichinen. Hannover 1866 (vgl. IX. Abschnitt Rainey- oder Miescher'sche Schläuche. Psorospermienschläuche und Concretionen im Schweinefleisch. S. 77 ff.).
44. Hadden, W. B. A case of disseminated sarcoma. Transactions of the Pathol. Soc. London Bd. XXXIV S. 236 ff. 1883 (vgl. S. 239 Report of the Morbid Growths Comitees).

[1]) Inzwischen ist dieses Lehrbuch in „Dritter stark vermehrter Auflage" erschienen. 1043 Seiten mit 951 Abbildungen im Text.

45. Hagenmüller, P. Bibliotheca sporozoologica. Ann. Mus. H. nat. Marseille Serie 2 Bd. I Supplément Marseille 1899.
46. Hessling, Th. v. Histologische Mitteilungen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. V S. 189 ff. 1854 Mit Zusatz v. Siebold S. 199 ff.
47. Huet, L. Note sur des parasites trouvés dans les poumons et dans les muscles de l'Otavia Californiana. Compt. rend. Soc. Biol. Année 1882 Bd. XXXIV S. 321 ff. 1882.
48. Janin, F. Recherches sur la Sarcosporidie du mouton. Arch. de Parasitologie Bd. XI S. 233 ff. 1906/07 und: Researches in to the Sarcosporidia of the Sheep. Journal of Tropical Veter. Science Bd. III S. 36 ff.
49. Johne, A. Zur Frage der Aktinomykose beim Schwein. Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin u. vgl. Pathologie Bd. XIII S. 140 ff. 1888.
50*. Jongh Über Parasiten in den Muskeln von Rindern, Büffeln, Hirschen, Ziegen, Schweinen usw. Bladen uitgegeven door de Vereenigung tot Bevordering van Veerartsenijkunde in Nederlandsch Indië 1885 (Referat in Schweizer-Archiv f. Tierheilkunde Bd. XXVIII S. 320. 1886).
51. Kartulis Über pathog. Protoz. b. Menschen. Zeitschr. f. Hygiene Bd. XIII. S. 1 ff. 1893.
52. Kasparek, Th. Beiträge zu den Infektionsversuchen mit Sarkosporidien. Centralbl. f. Bakt. 1. Abtl. Bd. XVIII S. 327 1895.
53. Kerr, A. F. G. Protozoal Diseases in Man. The Dublin Journal of medical Science 3. Series Nr. 439 1908 S. 93 ff. (vgl. S. 100).
54. Klebs, E. Die Allgemeine Pathologie oder die Lehre von den Ursachen und dem Wesen der Krankheitsprozesse. 1. Teil S. 291 Jena 1887.
55. Derselbe, Psorospermien im Innern von tierischen Zellen. Arch. f. pathol. Anatomie u. Physiologie Bd. XVI S. 188 ff. 1859.
56. Koch, M. Über Sarcosporidien. Verh. d. 5. Intern. Zoolog. Kongr. Berlin S. 674 Jena 1902.
57. Derselbe Die experimentelle Übertragung der Mierscher'schen Schläuche. Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. 41 S. 321 1904.
58. Koch, Robert und Gaffky, Georg Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Cholera im Jahre 1883 nach Ägypten und Indien entsandten Kommission. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. III Berlin 1887 (Anlagen S. 64*).
59. Korté, W. E. de On the presence of a Sarcosporidium in the thigh muscles of Macacus Rhesus. The Journal of Hygiene Bd. V S. 451 ff. 1905.
60. Krause, W. Über die Endigung der Muskelnerven. Zeitschr. f. ration. Medizin 3. Reihe Bd. XVIII S. 136 ff. 1863 (vgl. S. 156).
61. Derselbe Sechster Bericht über das pathologische Institut zu Göttingen. Nachrichten v. d. Königl. Gesellsch. d. Wissenschaften usw. zu Göttingen Nr. 12 S. 273 ff. 1865 (vgl. S. 305).
62. Derselbe Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse von den parasitären Protozoen. Hygienische Rundschau Jahrg. 2 (1892) S. 357 ff. und 453 ff. 1892 (vgl. S. 474 ff.).
63. Kühn, J. Untersuchungen über die Trichinenkrankheit der Schweine. Mitteilungen des landwirtschaftl. Inst. der Universität Halle Jahrg. 1865 (vgl. S. 68 ff.).
64. Labbé, A. Sporozoa. Das Tierreich. 5. Lieferung. Berlin 1899.
65. Lang, A. Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Tiere. 2. Aufl. Bd. I Abt. 1 1901.
66. Lankester, E. Ray, vgl. Minchin, E. A.
67. Derselbe On Drepanidium ranarum the cell-parasit of the frog's blood and spleen (Gaule's Würmschen). Quart. Journal Microscopical. Science N. S. Bd. XXII S. 53 ff. London 1882.
68. Laulanié, F. Sur les Utricules psorospermiques des muscles du porc et les altérations, qu'ils determinent. Revue vétérinaire 9me Année S. 57 ff. 1884.
69. Laveran, A. et Mesnil, F. Sur la morphologie des Sarcosporidies. Compt. rend. Soc. Biol. Année 1899 S. 245 ff. Paris 1899.
70. Dieselben De la Sarcocystine, toxine des Sarcosporidies. Compt. rend. Soc. Biol. Année 1899 S. 311 Paris 1899.

71. Leidy (und Elliot Coues) On Psorosperms in a Mallard Duck. Proceedings Ac. Philad. S. 125 1875.

72. Leisering Bericht über die Anatomie. E. Krankheiten der Knochen und Muskeln. 2. Rainey'sche Körperchen. Berichte über das Veterinärwesen im Königreiche Sachsen für das Jahr 1865 Jahrg. 10 S. 8 ff. (vgl. S. 40 ff.). Referat darüber unter dem Titel „Leisering und Winkler, Psorospermienkrankheit beim Schafe" im Arch. f. pathol. Anat. Bd. XXXVII S. 431 ff. 1866.

73. Liberkühn, N. Über die von Miescher, Hessling und anderen in dem Muskelfleisch von Ratten, Schafen, Rindern, Schweinen beobachteten parasitischen Schläuche. Sitzungsbericht der Gesellschaft naturforschender Freunde in Berlin vom 16. Febr. 1864 S. 4.

74. Leuckard, R. Untersuchungen über *Trichina spiralis*. Leipzig und Heidelberg 1866 (vgl. S. 110 ff.).

75. Derselbe Die menschlichen Parasiten und die von ihnen herrührenden Krankheiten. Bd. I Leipzig und Heidelberg 1863 (vgl. S. 49, 141, 740 ff.).

76. Derselbe Die menschlichen Parasiten und die von ihnen herrührenden Krankheiten. 2. Aufl. Bd. I Abt. 1 Leipzig und Heidelberg 1879—1866 (vgl. S. 251 ff.).

77. Derselbe Parasitismus und Parasiten. II. Naturgeschichte der Eingeweidewürmer, Helminthen. Arch. f. physiol. Heilkunde Jahrg. 11 S. 435 Stuttgart 1852.

78. Derselbe Bericht über die wissenschaftlichen Leistungen in der Naturgeschichte der niederen Tiere während der Jahre 1866 und 1867 (2. Hälfte). Arch. f. Naturgeschichte Jahrg. 34 Bd. 2 S. 207 ff. 1868 (vgl. S. 340—342).

79. Lindemann, C. Die Gregarinen und Psorospermien als Parasiten des Menschen. Bulletin de la Soc. Impériale de Naturalistes de Moscou Bd. XXXVI Nr. 3 S. 426 ff. 1863.

80. Lindemann, K., Weiteres über Gregarinen. Bulletin de la Soc. Impériale de Naturalistes Bd. XXXVIII Nr. 3 S. 381 ff. 1865.

81. Derselbe Über die hygienische Bedeutung der Gregarinen. Deutsche Zeitschr. f. Staatsarzneikunde N. F. Bd. XXVI S. 326 1868 (übersetzt aus dem russischen Arch. f. gerichtl. Medizin u. öffentl. Gesundheitspflege 1866).

82. Lindner, G. Zur Kenntnis der Biologie gewisser Vorticellen. Biolog. Centralbl. Bd. XV S. 833 ff. 1895. Referat darüber von F. Römer in Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX S. 355 ff. 1896.

83. Derselbe Regelmäßiger Befund spezifischer Monaden in den Miescher'schen Schläuchen. Naturw. Wochenschr. Bd. XVIII S. 315 ff. 1903.

84. Linstow, v. Parasiten, meistens Helminthen, aus Siam. Arch. f. Micr. Anat. Bd. LXII S. 108 ff. 1903 (vgl. S. 120).

85. Lühe, M. Ergebnisse der neueren Sporozoenforschung. Zusammenfassende Darstellung mit besonderer Berücksichtigung der Malariaparasiten und ihrer nächsten Verwandten. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Bd. XXVII S. 367 ff. 436 ff.; Bd. XXVIII S. 205 ff., 258 ff. 316 ff. 384 ff. 1900 (Über Sarkosporidien vgl. Bd. XXVIII S. 206 u. 208 [Literatur] u. S. 323 ff.).

86. Derselbe Ergebnisse der neueren Sporozoenforschung. Mit besonderer Berücksichtigung der Malariaparasiten und ihrer nächsten Verwandten. Jena Gustav Fischer 1900.

87. Manz, W. Beiträge zur Kenntnis der Miescher'schen Schläuche. Arch. f. Mikroskop. Anat. Bd. III S. 345 ff. 1867.

88. Mesnil, F. Rievel et Behrens Beiträge zur Kenntnis der Sarkosporidien und deren Enzyme (Referat). Bullet. Inst. Past. 1904 Bd. II S. 218 ff.

89. Mesnil, F. et Marchoux, E. Sur un Sporozoaire nouveau (*Coelosporidum chydoricola* n. g. n. sp.) intermédiaire entre les Sarcosporidies et les Amoebidium Cienkowsky. Compt. rend. Soc. Biol. Année 1897 S. 839 ff. 1897 und Compt. rend. Acad. Sc. Bd. CXXV. S. 323 ff. 1897.

90. Miescher, F. Über eigentümliche Schläuche in den Muskeln einer Hausmaus. Bericht über d. Verhandl. d. naturforschenden Gesellsch. in Basel v. August 1840 bis Juli 1842 V S. 198 ff. 1843. Abgedruckt in Verhandl. d. 5. Intern. Zool. Kongr. Berlin S. 679 Jena 1902.

91. Minchin, E. A. The Sporozoa. In Lankester, E. Ray A Treatise on Zoology. Part. 1. Fasc. 2 London 1903 (vgl. S. 299 ff.).
92. Morat Etudes statistiques sur la maladie psorospermique chez le mouton. Bulletin et Mémoires de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire Année 1886 S. 369 ff. Referat v. Johne in Fortschritte d. Medizin Jahrg. 5 1887 S. 128.
93. Moulé, L. Psorospermies du tissu musculaire du mouton. Bulletin et Mémoires de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire Année 1886 S. 125 ff.
94. Derselbe Sur la Psorospermose des Bovidés. Bulletin et Mémoires de la Société Central de Médecine Vétérinaire Année 1886 S. 694 ff.
95. Nègre, L. Sarcosporidiose expérimentale. Compt. rend. Soc. Biol. Bd. LXII S. 374 Paris 1907.
96. Derselbe Sur le stade intestinal de la sarcosporidie de la souris. Compt. rend. Soc. Biol. S. 997 ff. 1910.
97. Negri, A. Observazioni sui Sarcosporidi. Atti della Reale Accademia dei Lincei Serie quinta Rendiconti Classe die scienze fisiche, matematice e naturali Bd. XVII 1° Semestre S. 561 ff. u. 666 ff. 1908.
98. Derselbe Beobachtungen über Sarkosporidien. I II III Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XLVII S. 56 612 1908; Bd. LV S. 373 1910.
99. Neumann, L. G. Traité des maladies parasitaires non microbiennes des animaux domestiques. Paris 1888 (vgl. S. 567 ff.).
100. Niederhäuser, D. v. Über Psorospermien. Mitteilungen d. naturf. Ges. Bern aus dem Jahre 1873 Sitzungsberichte S. 54 ff. 1874.
101. Derselbe Psorospermien bei der Ziege. Zeitschr. f. prakt. Veterinärwissenschaft Jahrg. 1 S. 79 ff. 1873.
102. Pagenstecher, A. Über Trichinen und Psorospermien beim Maskenschweine. Verhandl. des naturhist.-mediz. Vereins z. Heidelberg. Bd. IV. 1865 März bis 1868 Oktober S. 20 ff. Heidelberg 1868.
103. Derselbe Die Trichinen. Leipzig 1865 (vgl. S. 100 ff.).
104. Perrier, L. Structure de la spore de *Sarcocystis tenella* (Baill.) du mouton et de la chèvre. Compt. rend. Soc. Biol. Bd. LXII S. 478 1907 (Referat darüber von F. Mesnil im Bull. de l'Instit. Pasteur Bd. V S. 427 1907).
105. Perrin, W. S. Note on the Possible Transmission of Sarcocystis by the Blow-Fly. Spolia Zeylanica Bd. V S. 58 ff. Colombo 1908.
106*. Perroncito, E. Poche parole intorno di corpuscoli del Rainey. Il Medico veterinario 1869.
107. Pfeiffer, L. Beiträge zur Kenntnis der pathogenen Gregarinen. II. Die Psorospermienschläuche (*Sarco-* u. *Myxosporidia*), speziell von der Speiseröhre des Schafes, und die *Myositis gregarinosa* der Warmblüter. Zeitschr. f. Hygiene Bd. IV S. 402 ff. 1888.
108. Derselbe Über einige neue Formen von Miescher'schen Schläuchen usw. Arch. f. path. Anat. Bd. CXXII S. 552 ff. 1890.
109. Derselbe Die Protozoen als Krankheitserreger. 2. Aufl. Jena 1891.
110. Derselbe Untersuchungen über den Krebs. Die Zellerkrankungen und die Geschwulstbildungen durch Sporozoen. Jena 1893 (vgl. 51 ff.).
111. Piana, G. Communicazioni alla Società medico-veterinaria lombarda nella seduta de 1° marzo 1896 sopra studii in corso nell' Istituto patologico della R. Scuola superiore di medicina veterinaria di Milano. IV. Fasi evolutive dei sarcosporidi. La Clinica Veterinaria Anno 19 1896 (vgl. S. 145 ff.) Auszug in Centralbl. f. Bakt. Bd. XX S. 39 1896.
112. Pluymers, L. Des Sarcosporidies. Annales de Médecine Vétérinaire 45. Année S. 569 ff. 1896.
113. Derselbe Des Sarcosporidies et de leur rôle dans la pathogénie des myosites. Arch. de Médecine expérimentale 1re Série Tome huitième 1896.
114. Prowazek, S. v. Einführung in die Physiologie der Einzelligen (Protozoen). Leipzig und Berlin 1910.

115. PÜTZ, H. Psorospermien und MIESCHER'sche Schläuche in den Muskeln. Der Tierarzt Jahrg. 26 Nr. 1 S. 7 ff. 1887.
116. PÜTZ, H. Über fibroide Pseudohypertrophie vieler Skelettmuskeln eines Pferdes bei Anwesenheit MIESCHER'scher Schläuche. Arch. f. path. Anat. Bd. CIX S. 144 ff. 1887 und *Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. XIV S. 112 1888.
117. RAILLIET, M. A. Psorospermies géantes dans l'oesophage et les muscles du Mouton. Bull. et Mem. de la Sc. Centr. de Méd. Vétérinaire Année 1886 S. 130 ff.
118. Derselbe Nodules psorospermiques dans l'oesophage d'une chèvre. Bull. et Mém. de la Sc. Centr. de Méd. Vétérinaire Année 1886 S. 375.
119. RAINEY, G. On the Structure and Developement of the Cysticercus cellulosae as found in the Muscles of the Pig. Philosophical Transactions of the Royal Society of London for the year 1857 Bd. CXLVII S. 111 ff. London 1858.
120*. RÀTZ, ST. v. A izomban élösködö véglények és a magyar faunàban elöforduló fojaik (Die Sarkosporidien und ihre in Ungarn vorkommenden Arten). Allabani közlemények 1909.
121. Derselbe Über die Struktur der Sarkosporidienschläuche. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde Bd. XXXVI (Supplement-Band) S. 573 ff. 1910.
122. RATZEL, F. Beschreibung einiger neuer Parasiten. 4. Psorospermien in Affenmuskeln. Arch. f. Naturgesch. Jahrg. 34 Bd. I S. 154 ff. 1868.
123. RIECK, V. Sporozoen als Krankheitserreger bei Haustieren. Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. u. vergl. Path. Bd. XIV S. 52 ff. 1889 (vgl. S. 75 ff.).
124. RIEVEL und BEHRENS Beiträge zur Kenntnis der Sarkosporidien und deren Enzyme. Centr. f. Bakt. 1. Abt. Bd. XXXV S. 341 ff. 1904.
125. RIPPING, L. H. Beiträge zur Lehre von den pflanzlichen Parasiten beim Menschen. III. Über die MIESCHER'schen Schläuche. Zeitschr. f. ration. Medizin Dritte Reihe Bd. XXIII S. 133 ff. 1864 (vgl. S. 139 ff.).
126. ROLOFF, F. Die MIESCHER'schen Schläuche oder RAINEY'schen Körper. Arch. f. pathol. Anat. Bd. XLVI S. 437 ff. 1867.
127. Derselbe Über die RAINEY'schen Körperchen. Vorläufige Mitteilung. Centr. f. d. mediz. Wissenschaften Jahrg. 6 S. 324 ff. 1868.
128. ROSENBERG, B. Ein Befund von Psorospermien (Sarkosporidien) im Herzmuskel des Menschen. Zeitschr. f. Hygiene Bd. XI S. 435 1892.
129. SCHNEIDEMÜHL, G. Über Sarkosporidien. Tiermedizinische Vorträge Bd. III Heft 11 Leipzig 1897 (vgl. S. 1 ff.).
130. SANFDICE, F. Über einige Infektionskrankheiten der Haustiere in Sardinien. Zoopathologische Untersuchungen. II. Sarkosporidien in den Muskelfasern der Zunge von Rindern und Schafen. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten Bd. XXX S. 13 ff. 1895 (vgl. S. 13 ff.).
131. SHIPLEY, A. E. On the Ento-Parasites collected by the „Skeat Expedition“ to Lower Siam and Malay Peninsula in the Years 1899—1900. Proceeding of the Zoological Society of London 1903 Bd. II S. 145 (vgl. S. 155).
132. Derselbe Some Parasites from Ceylon. *Spolia Zeylanica* Bd. I Part. II S. 45 ff. 1903.
133. SIEBOLD, C. TH. v. Bericht über die Leistungen im Gebiete der Anatomie und Physiologie der wirbellosen Tiere in dem Jahre 1842. Arch. f. Anatomie, Physiologie und Wissensch. Medizin. Jahrg. 1843 S. I ff. (vgl. S. LXIII).
134. Derselbe vgl. auch HESSLING, TH. v.
135. SIEDAMGROTZKY, O. Psorospermienschläuche in den Muskeln der Pferde. Wochenschr. f. Tierheilkunde u. Viehzucht Bd. XVI S. 97 ff. 1872.
136. Derselbe Mitteilungen über Psorospermien. Jahresbericht d. Gesellschaft f. Natur- und Heilkunde in Dresden. September 1871 bis April 1872. S. 69 ff. Dresden 1872 (Referat darüber in: Lotos Jahrg. 22 S. 251 1872).
137. SMITH, F. TH. The production of Sarcosporidiosis in the Mouse by feeding injected muscular tissue. Journ. of experim. Medicine Bd. VI S. 1 ff. 1901.
138. Derselbe Further observations on the transmission of *Sarcocystis muris* by feeding. Journ. Medical Research Bd. XIII S. 429 ff. 1905.

139*. Splendore, A. Breve nota sopra alcuni sarcosporidi di ucelli brasiliani. Rev. da Soc. scient. de Sao Paulo S. 115 ff. 1907 (Referat darüber v. F. Mesnil in: Bull. de l'Institut Pasteur Bd. V S. 913 1907).

140. Sticker, A. Mitteilungen aus dem pathologischen Institut der Kgl. Tierarzneischule zu Berlin. 3. Psorospermien im Herzfleisch des Schafes. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde Bd. XII S. 381 ff. 1886.

141*. Szentkirályi, A. A Miescher-féle tömbök. Kolozsvár 1881.

142. Targett, J. H. Cysts of the ureter and pelvis of kidney, psorosperminial sacs. Transaction of the Pathol. Soc. of London Bd. XLI S. 170 ff. 1890.

143. Teichmann, E. Über das Gift der Sarkosporidien. Experimentelle Untersuchungen am Kaninchen. Arch. f. Protistenkunde Bd XX S. 97 ff. 1910.

144. Derselbe Über die Teilung der Keime in der Cyste von *Sarcocystis tenella*. Arch. f. Protistenkunde Bd. XXII S. 239 ff. 1911.

145. Teichmann, E. und Braun, H. Über ein Protozoentoxin (Sarkosporidiotoxin). Arch. f. Protistenkunde Bd. XXII S. 351 ff. 1911 [1]).

146. Virchow, R. Zur Trichinenlehre. Arch. f. pathol. Anatomie und Physiologie Bd. XXXII S. 356 ff. 1865.

147. Derselbe Die Lehre von den Trichinen. 3. Aufl. Berlin 1866 (vgl. S. 20 ff.).

148. Derselbe Gibt es eine Psorospermienkrankheit bei Schweinen? Arch. f. pathol. Anatomie und Physiologie Bd. XXXVII S. 255 ff. 1866.

149. Vuillemin, P. Le sarcocystis tenella parasite de l'homme. Compt. rend. Ac. sc. Paris Bd. CXXXIV S. 1152 ff. 1902.

150. Waldeyer, W. Über Psorospermiencysten in den Muskeln des Schweines. Centr. f. d. med. Wissensch. S. 849 ff. 1863.

151. Wasielewski, Th. v. Sporozoenkunde. Ein Leitfaden für Ärzte, Tierärzte und Zoologen. Jena 1896 (vgl. S. 119 ff.).

152. Watson, E. A. Sarcosporidiosis. Its association with „Loco-Disease“ and Dourine and the possibility of mistaking the spores of Sarcocystis for certain so-called developemental forms of Trypanosomata. The Journal of Comparative Pathologie and Therapeutics Bd. XXII Nr. 1 S. 1 ff. 1909.

153. Willey, Arthur; Chalmers, Albert; Marshall Philip, Wm. Report on Parasites in the Carcases of Buffaloes at the Colombo Slaughter House. *Spolia Zeylanica* Bd. II Part. V April 1904 S. 65 ff. Colombo 1904.

154. Zenker, F. A. Über die sogenannten Rainey'schen Schläuche. Verh. d. phys.-med. Societät zu Erlangen 1865—1867 Heft 1 S. 20 ff. Erlangen 1867.

155. Zürn, F. A. Die Schmarotzer auf und in dem Körper unserer Haussäugetiere, sowie die durch erstere veranlaßten Krankheiten, deren Behandlung und Verhütung Weimar 1874 (vgl. II. Teil Pflanzliche Parasiten S. 450 ff.).

[1]) Eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Arbeit ist inzwischen in den „Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft 1911“ S. 278 ff. erschienen: Teichmann, E. Über ein Protozoentoxin.

—

Treponema pallidum (Schaudinn).

Von

Prof. Dr. **Peter Mühlens**, Hamburg.

Mit 5 Tafeln und 11 Abbildungen im Text.

Inhaltsübersicht.

A. Nomenklatur und Stellung im System.

FRITZ SCHAUDINN entdeckte am 3. März 1905 im Protozoen-Laboratorium des Kaiserlichen Gesundheitsamts zu Berlin bei zusammen mit E. HOFFMANN, NEUFELD und GONDER begonnenen Untersuchungen im Gewebssaft einer exzidierten syphilitischen Genitalpapel lebhaft bewegliche, korkzieherartig gewundene, äußerst schwierig zu färbende Mikroorganismen, die er zunächst zur Gattung „Spirochaeta" stellte. Er nannte sie wegen ihrer außerordentlich zarten Form „*Spirochaeta pallida*". Später gab er ihr auf Grund ihres morphologischen Aufbaues („formbeständige enggewundene Körpergestalt, runder Durchschnitt, fehlende undulierende Membran, Vorkommen von Endgeißeln") den Namen *Treponema pallidum* und trennte sie von den eigentlichen Spirochäten ab. (Vorher hatte er, einem Vorschlage von VUILLEMIN beistimmend, zunächst den Gattungsnamen „Spironema" angenommen. Da dieser aber bereits von KLEBS für einen Flagellaten vergeben war, wurde er wieder aufgegeben.) Nach den Regeln der Nomenklatur war somit der Gattungsname „Treponema" zunächst beizubehalten. STILES und PFENDER (1905) wählten die Bezeichnung „*Microspironema*". GROSS (1911) hält auch neuerdings noch den Gattungsnamen „*Spironema*" für den richtigen im Gegensatz zu DOBELL (Q. Journ. Micr. Sc. Vol. 56 1911) und SWELLENGREBEL (Centralbl. f. Bakt. Ref. 1912. Bd. 51, p. 156), die für „*Treponema*" plaidieren. Von anderen üblichen Benennungen seien hier noch die von E. HOFFMANN gebrauchten erwähnt: *Spirochaeta luis* (Lustschräubchen) und Syphilisspirochäte. Gegenwärtig herrscht große Uneinigkeit bezüglich der Benennung. Die gebräuchlichsten Namen sind: *Spirochaeta pallida* und *Treponema pallidum*. HOFFMANN erklärt in einer neueren Publikation nur die Namen *Sp. pallida* (SCHAUDINN), *Sp. luis* (HOFFMANN) und Syphilisspirochäte (HOFFMANN) für richtig. — In dieser Abhandlung werde ich mich mit vielen Zoologen an den von SCHAUDINN bevorzugten Namen „Treponema" halten. In Zitaten u. dgl. sind natürlich die von den betreffenden Autoren gewählten Benennungen gebraucht. Auch ist häufig zur Abkürzung und Abwechslung die vielfach übliche kurze Bezeichnung „Pallida" angewendet worden.

Auch bezüglich der **Stellung im System** herrscht noch keine Einigkeit, zumal die Charakteristika, unter denen SCHAUDINN die Gattung „Treponema" aufgestellt hatte, zum Teil nicht mehr als für „Pallida" spezifisch gelten können. Die Frage der Stellung der Spirochäten im allgemeinen ist in dem Kapitel „Spirochäten" von Dr. GONDER eingehend erörtert. Hier seien nur die einander gegenüberstehenden Ansichten bezüglich des Treponema mit dem Für und Wider kurz zusammengestellt.

Als Beweise für die Bakteriennatur werden hauptsächlich angeführt: Vermehrung durch Querteilung, peritriche Begeißelung, Art des Kulturwachstums.

Viel zahlreicher und stichhaltiger sind aber die Gründe für die Protozoennatur:

1. Fehlen einer starren Membran und daher bedeutende Flexibilität des Körpers selbst.

2. Die Vermehrungsart: Längsteilung bzw. Querteilung mit Bildung eines Zwischenfadens, wie wir ihn bei Bakterien nicht kennen. Die bei der Teilung entstehenden geißelartigen Fortsätze sind ihrer Natur nach nicht mit den Bakteriengeißeln identisch.

3. Verhalten gegenüber chemischen Stoffen: Nach v. PROWAZEK, W. SIEBERT u. a. löst taurocholsaures Natrium 1 : 10 das *Treponema pallidum* im Gegensatz zu Bakterien völlig auf, ebenso wie andere Spirochäten (NEUFELD) und

Protozoen. Fein zerkleinerte Primäraffekte, eine halbe Stunde lang mit taurocholsaurem Natrium 1 : 10 behandelt, erwiesen sich nicht mehr als infektionstüchtig für Affenimpfung. Auch das Saponin 1 : 10 schädigt die Spirochäten ähnlich wie Protozoen (von Prowazek, Landsteiner und Mucha). v. Prowazek sagt: Die Gallensubstanzen scheinen allein die Spirochäten wirklich aufzulösen, durch Saponin wird nur der Inhalt mit Ausnahme des Periplasts zum Schwinden gebracht.

4. Spezifisches Verhalten gegen chemotherapeutische Mittel, wie es ähnlich bei sicheren Protozoenkrankheiten der Fall ist, z. B. wie bei Malaria und Trypanosomiasis gegenüber den spezifisch parasitentötenden organischen Arsenpräparaten.

5. Immunitätsverhältnisse, ähnlich wie bei Trypanosomen. Agglomeration. Art des Auftretens von periodischen Nachschüben bzw. Rezidiven u. dgl.

6. Eventuelle Ruhestadien und Dauerformen (?).

Aus allen diesen Gründen nehmen namentlich manche Zoologen ähnlich so wie schon Schaudinn an, daß die Treponemen zu den Protozoen gehören, und zwar den Trypanosomen sehr nahe stehen. Andere Forscher, namentlich einige namhafte Bakteriologen, zählen sie aus den zuerst genannten Gründen zu den Bakterien. Wieder andere wollen ihnen eine Mittel-, eine Art Übergangsstellung zwischen Bakterien und Protozoen einräumen. Diese letztere Ansicht hat viel Wahrscheinlichkeit für sich. — Im Dezember 1905 sagte schon Schaudinn: „Im übrigen muß ich aber bekennen, daß die Frage der systematischen Zugehörigkeit zurzeit ein geringeres wissenschaftliches Interesse hat; meine Überzeugung ist schon lange, daß die Bakterien und Protozoen nicht getrennte Stämme, sondern nur Zweige desselben Baumes der Einzelligen oder Protisten sind und durch Übergänge (an der Zweiggabel!) verbunden. Ob wir in den Spirochäten nicht einen dieser Übergänge — etwa auf dem Wege von den Euflagellaten zu den echten sich durch Querteilung vermehrenden Spirillen — gefunden haben, kann erst die weitere wissenschaftliche Durchforschung des Gebietes lehren."

Doflein schreibt in der eben erschienenen neuesten Auflage seines Lehrbuches: „Für die Aufstellung eines Systems der Spirochäten ist die Zeit noch nicht gekommen. Wir wissen nicht einmal Genaueres über die Abgrenzung der Spirochäten gegenüber den Spirillen und Vibrionen. Es ist sehr wohl möglich, daß unter dem Namen Spirochäten Organismen zusammengefaßt werden, welche nichts miteinander zu tun haben."

Inwieweit diese letztere Vermutung zutrifft, soll hier nicht erörtert werden. Jedoch muß hervorgehoben werden, daß wir gegenüber den Spirillen doch manche grundlegende Unterschiede kennen, wie schon Schaudinn zum Teil betont hat. Die Spirillen (Spaltpilze) haben eine starre Membran, gedrechselte Gestalt und bewegen sich vermöge der echten Geißelbüschel an ihren Enden, wobei die Körperform selbst unverändert bleibt, also nicht flexibel ist. Sie vermehren sich durch typische Querteilung (Anlage einer Querscheidewand). (Schellack und Gross haben neuerdings Querteilung auch bei großen Spirochäten beschrieben.) Gegenüber taurocholsaurem Natrium und Sapotoxin verhalten sich Spirillen genau so wie andere Bakterien, sie werden nicht aufgelöst. Bezeichnungen der Syphilis als „Spirillose" oder „Spirillenkrankheit", ferner Ausdrücke wie **„Syphilisspirillen"** „spirillozid" und ähnliche haben daher keine Berechtigung und wirken verwirrend.

B. Entwicklung der Treponema-Forschung und Vorkommen des Treponema pallidum.

I. Allgemeines.

SCHAUDINN und HOFFMANN wiesen zuerst regelmäßige Beziehungen der von gröberen Spirochäten (*Spirochaeta refringens* nach SCHAUDINN) der Genitalregion wohl zu unterscheidenden Pallida zu einer Anzahl von syphilitischen Produkten nach. Gleichzeitig wurde festgestellt, daß der neue Mikroorganismus bei den verschiedensten zur Kontrolle untersuchten nichtsyphilitischen Affektionen fehlte. Gleichwohl enthielten sich die beiden ersten Pallidaforscher zunächst noch bezüglich der ätiologischen Deutung ihrer Befunde eines abschließenden Urteils. In schneller Aufeinanderfolge entstand dann nach den ersten Publikationen eine gewaltige Menge von bestätigenden und erweiternden Befunden bei erworbener, hereditärer und selbst Tiersyphilis. Dadurch wurde von Tag zu Tag die Vermutung wahrscheinlicher, daß endlich der langgesuchte Syphiliserreger gefunden sei. METCHNIKOFF, C. FRAENKEL und LESSER äußerten sich schon im Juni 1905 in diesem Sinne.

Freilich fehlte es auch nicht an heftiger Opposition: Man bestritt die Spezifität nach den verschiedensten Richtungen hin und nahm zum Teil eine ätiologische Bedeutung für andere Mikroorganismen in Anspruch. Auf die letzteren kann in dieser Abhandlung nicht näher eingegangen werden. Die Bedenken gegen die Spezifität werden aber später erörtert (S. 443). Sie hielten der Kritik nicht stand. Unaufhaltsam reihte sich ein Glied der Beweiskette für die ursächliche Bedeutung der Pallida an das andere. Schließlich fehlte nur noch die Erzeugung von Syphilis mit der Reinkultur. Nachdem dies in allerneuester Zeit auch endlich gelungen zu sein scheint, dürfte es unter Medizinern und Zoologen nicht viele Zweifler an der Spezifität des *Treponema pallidum* mehr geben.

Seit seiner Entdeckung datiert eine neue Ära der vorher ins Stocken geratenen Syphilisforschung, deren praktisches Resultat ein für die Menschheit außerordentlich segensreiches geworden ist. Nicht nur können wir jetzt im Laboratorium mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit die Syphilis durch Treponema-Nachweis oder WASSERMANN'sche Reaktion diagnostizieren; sondern wir sind auch in der Therapie, insbesondere durch Verfolgung der Arsenheilwirkung, namentlich aber durch die Salvarsan-Entdeckung um ein ganz Bedeutendes weiter gekommen. Selbstverständlich haben diese Errungenschaften auch ihren rückwirkenden günstigen Einfluß auf die Syphilisbekämpfung und -verbreitung. Wir werden noch sehen, daß nicht zum mindesten die seit Entdeckung der Pallida auch so sehr fortgeschrittenen tierexperimentellen Studien wesentlich mit zu den genannten praktischen Resultaten verholfen haben. Vielen deutschen Forschern wurden ihre Studien durch pekuniäre staatliche und Privatunterstützung (Stiftung des Geh. Kommerzienrats ED. SIMON-Berlin) ermöglicht.

FRITZ SCHAUDINN's Entdeckung hat ihm, der leider allzu früh einer tückischen Krankheit zum Opfer fallen sollte, ein Denkmal für alle Zeiten gesetzt.

II. Besonderes.

1. Frühere Spirochätenbefunde. Balanitisspirochäte.

Nach einer auch von METSCHNIKOFF publizierten Mitteilung sollen BORDET und GENGOU (publ. 1. V. 1905) bereits vor SCHAUDINN im Jahre 1903 die Pallida in Präparaten von einem

Ulcus durum und einer Rachenschleimhaut-Papel gesehen haben. Sie hatten aber diesen Befunden, die sie später nicht wieder erhoben, anscheinend keine Bedeutung beigemessen und sie zudem erst nach Schaudinn's Entdeckung publiziert. Nach der kurzen Beschreibung scheint es zumindest sehr zweifelhaft, ob sie in der mit einer Mischung von Methylgrün und Karbolmethylviolett gefärbten „neuen Spirille" (14—21 μ lang mit 5—7 Windungen im Durchschnitt) die Schaudinnsche Spirochäte hatten. Prioritätsansprüche kommen nicht in Frage.

Erwähnt sei hier auch, daß schon früher in der Genitalgegend lebende Spirochäten gefunden waren, die aber mit der Pallida nicht identisch waren. So hatte Donné bereits im Jahre 1837 Spirochäten im Schankersekret unter dem Namen „*Vibrio lineola*" beschrieben. Nach Hoffmann und Rille handelte es sich dabei jedenfalls um die harmlose *Spirochaeta refringens*. Ähnliche bzw. dieselben Spirochäten sind bei Genitalaffektionen, insbesondere bei Balanitis erosiva, auch später wiederholt gesehen worden (Berdal und Bataille (1891), Csillag (1898), Rona (1903), Müller und Scherber (1905)). Wir kommen darauf noch zurück (S. 446).

2. Treponema-Befunde bei erworbener Syphilis aller Stadien.

Schaudinn und Hoffmann (April und Mai 1905) hatten ihre ersten Untersuchungsergebnisse in drei kurz nacheinander folgenden Publikationen niedergelegt: Die Pallida war zunächst in acht Fällen von frischer Syphilis: in Papeln und Primäraffekten, sowohl im Sekret an der Oberfläche als auch in der Tiefe des Gewebes, teils lebend, teils im gefärbten Ausstrich, sowie auch in zwei Drüsenausstrichen regelmäßig gefunden worden. Die zweite Publikation berichtete über den regelmäßig gelungenen Pallidanachweis in acht Lymphdrüsen Syphilitischer: zweimal im Ausstrich exstirpierter Drüsen und sechsmal im Punktionssaft. In der denkwürdigen Sitzung der Berliner medizinischen Gesellschaft vom 17. Mai 1905 teilten Schaudinn und Hoffmann ihre Befunde mit und fügten zwei weitere positive Nachweise im Drüsensaft und ferner einen weiteren im Milzpunktionssaft eines unmittelbar vor dem Eruptionsstadium befindlichen Sekundärsyphilitischen hinzu.

Es ist unmöglich und auch in diesem Handbuche überflüssig, alle die nun Schlag auf Schlag folgenden bestätigenden Publikationen über Pallidabefunde bei Menschen- und Tiersyphilis aufzuzählen. Die Befunde der ersten Zeit sind in guten Zusammenstellungen nachzulesen u. a. bei Glass (1905) und Mulzer (1906). Hier sollen nur einige der wichtigeren und selteneren, zum Teil zusammenfassend, hervorgehoben werden.

Von den gleich in der ersten Zeit der Pallidaforschung erschienenen kleineren Mitteilungen über positive Befunde seien angeführt die von Paschen, Frosch und Pielicke, Wechselmann und Loewenthal, Reckzeh, Metschnikoff, R. Kraus, Volk, Ehrmann, Paltauf, Herxheimer und Hübner, Noeggerath und Staehelin, McWeeney, Zabolotny usw. Größere systematische Untersuchungsreihen veröffentlichten ferner Spitzer, Kraus und Prantschoff, Scholtz, Grouven und Fabry, Rille und Vockerodt, Siebert, Zabolotny, Mulzer, Sobernheim und Tomasczewski, Flügel, Roscher, Oppenheim und Sachs, Lipschütz, Mendoza, Bertarelli und Volpino, Shennan u. a. Zusammenfassend sei hier nur darauf hingewiesen, daß die Untersuchungsresultate dieser genannten und vieler anderer Forscher der verschiedensten Nationen das fast konstante Vorkommen der Pallida in den meisten manifesten Produkten der erworbenen Syphilis ergaben, zum Teil auch in Drüsen bei anscheinend latenter Lues. — Von besonderem Interesse waren die Befunde im peripheren Blut: Nachdem Reckzeh und Raubitschek über Pallidanachweis im Fingerbeerenblut von Syphilitischen und Wolters im punktierten Venenblut berichtet hatten, folgten die sehr überzeugenden Befunde von Noeggerath und Staehelin (1905) im Blut von unbehandelten Sekundärsyphilitischen (Methodik

s. S. 371); nach deren Methode wurde dann auch von einigen anderen die Pallida aus dem peripheren Blut nachgewiesen (u. a. von Flügel (1905), sowie Robshoven (1907)). Letzterer untersuchte je 1 ccm Venenblut ähnlich wie Noeggerath und Staehelin: 30 mal wurde die Pallida gefunden, 7 mal war der Befund negativ und 3 mal fraglich. Außer in einem Falle mit manifesten Sekundärerscheinungen waren die Parasitenmengen stets gering, so daß die Methode kaum einen praktischen diagnostischen Wert haben dürfte.

Bandi und Simonelli gelang in 3 unter 5 Fällen von Lues II der Nachweis im frischen und auch im 24 Stunden nach Giemsa gefärbten Blutpräparat.

E. Hoffmann (1906) konnte Affen kutan, Baermann (1907) subkutan mit Blut infizieren (S. 426). Hier sei darauf hingewiesen, daß Hoffmann 18 ältere Versuche, durch Blutüberimpfung Lues von Mensch zu Mensch zu übertragen aus der Literatur zusammengestellt hat. Sieben von diesen Versuchen waren positiv ausgefallen.

Hirschberg (1905), Dreyer und Toepel (1906) sowie Mac Lennan (1906) fanden im Urinsediment bei Nephritis luetica Treponemen. Marzinowsky hatte schon Okt. 1905 in der Moskauer Therapeutischen Gesellschaft mitgeteilt, daß er im Harn eines Nephritikers Pallida und Refringens in großer Menge nachweisen konnte.

Rosenberger (1906) sah die Pallida im Liquor cerebrospinalis bei Syphilis des Zentralnervensystems; Dohi und Tanaka (1906) fanden sie in der Cerebrospinalflüssigkeit einer Frau mit syphilitischem Exanthem und Sézary und Paillard (1910) im Dunkelfeld in der Punktionsflüssigkeit eines Syphilitikers, der einen Schlaganfall erlitten hatte und dessen Körper mit Papeln und papulösen Geschwüren bedeckt war. In diesem Falle scheint aber die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die einzige nachgewiesene Spirochäte aus der Haut stammte. Auch noch vereinzelte andere Treponemabefunde aus Cerebrospinalflüssigkeit sind bekannt. — Bei den postluetischen Erkrankungen (Tabes und Paralyse) gelang der Pallidanachweis bisher nicht (u. a. Queyrat und Stanziale). Stanziale hält die Paralyse für eine durch syphilitische Toxine hervorgerufene Erkrankung.

Interessant sind noch die Hinweise Voerner's (1909) u. a. auf **verdeckte Syphilisstellen**: er fand bei syphilitischen Frauen in chronisch-gonorrhoischen Gewebsveränderungen der Genitalien Treponemen und ermittelte auch in einem solchen Falle die Infektion eines Mannes.

E. Hoffmann (1908) konnte in unbehandelten Fällen, selbst in älteren Sklerosenarben, gut bewegliche Spirochäten nachweisen.

Pasini sah die Treponemen u. a. im Sperma bei Erwachsenen sowie im atrophischen Hautgewebe, dem Residuum nach einer spezifischen Papel, 2 Jahre lang nach deren Verschwinden und scheinbarer Heilung.

Krulle und Hoffmann fanden Treponemen auf normalen Tonsillen bei latent Syphilitischen im Geschabe.

Auch Guszmann (1909) sowie Campbell (1910) haben analoge Befunde mitgeteilt. Ersterer fand in 9 von 17 Fällen geheilter Plaques auf den Tonsillen noch viele Treponemen; ferner sah er sie im Frühstadium auf den Tonsillen, ohne daß Allgemeinerscheinungen bestanden. Campbell stellte angeblich in dem aus den Tonsillen bei 46 Sekundärsyphilitischen gewonnenen blutgefärbten Reizserum 44 mal *Sp. pallida* fest; manche der Tonsillen waren nicht im geringsten verändert.

Bei solchen Tonsillenbefunden scheint allerdings einige Vorsicht wegen der Möglichkeit einer Verwechslung mit Mundspirochäten, insbesondere der *Sp. dentium* geboten.

In der ersten Zeit der Treponema-Forschung wurde aber nicht nur über positive, sondern auch über negative Befunde selbst bei sicher syphilitischen Affektionen berichtet. Insbesondere schien es, daß bei Tertiärprodukten und vor allem bei

maligner Lues (Buschke und Fischer) die Parasiten fehlten. Bei genaueren Untersuchungen mit den verbesserten Methoden gelang jedoch schließlich der Treponemanachweis auch in diesen Affektionen, wenn zwar nicht mit derselben Regelmäßigkeit und Häufigkeit wie bei Lues I und II. Spitzer (1905) fand sie in 2 ulzerösen Gummas nach „stundenlangem Suchen". Weitere positive Einzelbefunde hatten bei Lues III: Rille und Vockerodt, Dudgeon, Ewens, Hastings und Ferré und später Schmorl (in ganz frischem Knochengumma) sowie ferner im Jahre 1910 u. a. Wright und Richardson in fünf Fällen. Hauptsächlich war aber durch die eingehenden Untersuchungen von Doutrelepont und Grouven (1906) sowie Tomascewski (1906) überzeugend dargetan worden, daß die Pallida — wenn auch wenig zahlreich und häufig erst nach langem mühsamem Suchen — auch in tertiären Produkten gar nicht so selten nachzuweisen ist.

Nielsen (1909) fand die Pallida in papuloerosiven Syphiliden in Mund und Schlund noch 9 Jahre nach der Infektion; Malinowsky bei einem Ulcus cruris gummosum 4 Jahre post infectionem. Genug dieser Beispiele (s. auch S. 422).

Auch bei maligner Lues wurden unter ähnlichen schwierigen Umständen schließlich doch Treponemen gefunden, zuerst von Doutrelepont und Grouven sowie Herxheimer und Opificius. Diese Resultate sind weiterhin auch von einigen anderen bestätigt.

Auffallend ist demgegenüber, daß Buschke bis zum Jahre 1911 bei Lues maligna trotz sorgfältiger Untersuchungen in 28 Fällen mit seinen Assistenten niemals Spirochäten hat nachweisen können (ebensowenig Arning, priv. Mitteilung). Gleichwohl gelang Buschke mit dem Material wiederholt die Erzeugung von typischen Läsionen bei Affen, allerdings ohne Spirochätennachweis (s. S. 422).

3. Treponemabefunde bei angeborener Lues.

Bei der kongenitalen Syphilis wiesen zuerst Buschke und Fischer (1905) die Pallida in Leber, Milz und Blutpräparat (zu Lebzeiten gemacht) nach; fast gleichzeitig fand Levaditi die Treponemen auch bei Pemphigus syphiliticus, in Milz, Lunge und Leber. Es folgten dann eine Reihe weiterer bestätigender Befunde bei Lues congenita, z. B. von Salmon, E. Hoffmann (u. a. auch in Inguinaldrüsen und Frühsyphilom der Leber), Babes und Panea (auch in Nebennieren, Drüsen, Nieren, Thymus und Knochenmark, reichlich im Herzblut, in Meningen, Rachen- und Konjunktivalsekret), Babes und Mironescu (ungeheure Massen, „wahre Kolonien" in umschriebenen geschwulstartigen Wucherungen der Lunge und Leber), Broennum und Ellermann (bei mazerierten Föten), Schridde (1905) u. a. in Cerebrospinalflüssigkeit eines 3 Tage post partum verstorbenen Kindes, weiterhin von Paschen sowie Doutrelepont (Plazenta) und vielen anderen. Betont sei hier gleich, daß fast alle bisher genannten Treponemabefunde in Ausstrichpräparaten, nach Giemsa gefärbt, erhoben worden sind. Die Ausstrichbefunde wurden durch Schnittuntersuchungen nach den Methoden von Bertarelli und Volpino, insbesondere nach der Modifikation Levaditi's bestätigt und derart ergänzt, daß bald aus allen Organen kongenital syphilitischer Föten und Kinder Treponemabefunde bekannt waren. Außer den bereits genannten Arbeiten seien noch von denen der ersten Zeit erwähnt: vom Jahre 1905: die von Sauvage, Nobécourt, Darré, Schaudinn, Veillon und Girard; vom Jahre 1906: Buschke und Fischer, Gierke, Grouven und Fabry, Herxheimer, Frohwein, Beitzke, Wolters, Versé, Simmonds, Schlimpert, Sakurane; vom Jahre 1907: Bab, Mühlens, Benda usw. Von den Befunden seien im einzelnen nur einige der wichtigeren und selteneren angeführt: Die Pallida wurde z. B. nachgewiesen in Gehirn und Rückenmark, in Nerven und frei im Lumen von Blutgefäßen. Paris

und Sabaréanu (1910) fanden bei 43% Lues hereditaria Treponemen im vorderen Lappen der Hypophyse, hauptsächlich in der Wandung der Blutgefäße.

Fernere interessante Pallidabefunde sind erhoben in: Hoden, Penis (Bab), Ovarium und Ovulum (Wolters, Bab u. a.), in Tube und Uterusmuskulatur (Bab), Gallenblase (u. a. Klein: lebend im Dunkelfeld) und Ductus choledochus, Ascitesflüssigkeit (Doutrelepont), in peritonitischen Auflagerungen (Klein: lebend), Tonsillen, Zunge, Parotis, Thymus, Thyreoidea (Huebschmann u. a. „in ganz enormen Mengen"), Pankreas, an den Knochenknorpelgrenzen, in Zahnkeimen der Incisivi (Pasini), im Coryzasekret, im sezernierenden Teil der Schweißdrüsen usw. Auf Grund des letzteren sowie der Befunde im Epithel und Lumen von Lungenalveolen und der Tubuli contorti der Nieren glaubten Pasini und Schlimpert, daß die Se- und Exkrete von Neugeborenen als infektiös anzusehen seien, auch ohne klinische Zeichen der Infektion. Simmonds (1906) fand (wie später andere) auch Treponemen im Mekonium. Weiterhin sind die Parasiten nachgewiesen in den verschiedensten Muskeln, auch im Herzen, bei Myocarditis syphilitica sehr zahlreich (Buschke und Fischer), in fast sämtlichen Teilen des Auges (Bab, Sabrazès und Dupérié).

Igersheimer demonstrierte im ärztlichen Verein zu Halle (1910) in einem exzidierten parenchymatös erkrankten Hornhautstückchen eines 14jährigen hereditär luetischen Knaben *Treponema pallidum* im Levaditischnitt. Wassermann'sche Reaktion bei Kind und Mutter positiv. Nach Igersheimer's Ansicht stellt die Keratitis parenchymatosa daher eine echt syphilitische, keine metasyphilitische Erkrankung dar. In demselben Sinne sprächen auch die Spirochätenbefunde in anscheinend normaler und kranker Cornea syphilitischer Föten (v. Hippel). (Bab hatte Treponemen auch in den tieferen Schichten der Cornea gesehen.) Die Spirochäten säßen aus fötaler Zeit her in der Cornea, wo sie dann später aus unbekannter Ursache plötzlich eine Entzündung anfachen sollen.

Grünberg hat im Juni 1911 Pallidabefunde in Schnitten durch das Felsenbein eines 7monatigen Fötus demonstriert. Die Treponemen fanden sich in zum Teil kolossalen Mengen im Stamm des Cochlearis und Vestibularis, im ganzen Facialis, in den Nervenstämmen des Plexus tympanicus in der Paukenhöhle, dem Plexus caroticus internus u. a.; ferner in der Wand resp. der Umgebung der Gefäßverzweigungen des Mittelohrs und im Mark der Gehörknöchelchen. Keine Spirochäten waren nachzuweisen: im Bereich der Gefäße der Nervenendigungen des inneren Ohrs, ebensowenig in den Hohlräumen des Labyrinths.

Fouquet (1907) fand die Pallida im Blinddarm eines syphilitischen Fötus in großer Zahl und schloß daraus (— wie vorher auch Gaucher angenommen hatte —), daß häufig, namentlich in Fällen von Appendicitis „familiaris" die Syphilis als Ursache anzusprechen sei.

Langer (1910) machte auf das Vorkommen der Treponemen in den Vaccinen bei kongenital syphilitischen Kindern aufmerksam; er fand sie im Jahre 1909/10 bei sieben Kindern viermal in den Impfbläschen; kleine Stückchen waren mit scharfem Löffel entnommen, zerrieben und nach Burri gefärbt worden. Vorher hatte er die Parasiten in drei Fällen auch schon lebend und nach Giemsa gefärbt gesehen. Langer glaubt, daß Spirochäten sich nur dann in Impfpusteln entwickeln, wenn syphilitisch veränderte Hautstellen durch den Impfstich getroffen werden. — Buschke und Fischer (1906) konnten in einer auf anscheinend normaler Haut eines kongenital luetischen Kindes mittels Kantharidenpflaster gezogenen Blase Pallidae nachweisen sowie auch ziemlich zahlreich im Blutausstrich eines 6wöchigen Kindes. (Vgl. hierzu: Lipschütz, Dermatropismus, p. 243 dss. Handb.)

Buschke (1907) ist der Ansicht, daß die Parasiten im peripheren Blut bei kon-

genitaler Lues, namentlich kurz vor dem Exitus bei starkem Exanthem gar nicht so selten seien.

Aus dem strömenden Blut sind die Treponemen auch lebend im Dunkelfeld wiederholt (HOFFMANN und BEER, KLEIN u. a.) demonstriert worden. KLEIN wies noch darauf hin, daß er in Fällen, die nach intensiver antiluetischer Behandlung oder nach Sepsis mit hohem Fieber zur Sektion kamen, keine Spirochäten fand.

Die Plazenta- und Nabelschnur- sowie auch einige andere histologisch interessante Befunde werden später noch eingehender besprochen.

BAB konnte in Milch und Colostrum der Mutter keine Parasiten nachweisen.

4. Treponemabefunde bei der experimentellen Tiersyphilis.

Bald nach Bekanntwerden der SCHAUDINN'schen Entdeckung hatten zuerst METSCHNIKOFF und ROUX (Mitte Mai 1905) über Pallidanachweis in Affenprimäraffekten berichtet. Dem folgten dann bald weitere bestätigende Befunde (KRAUS und PRANTSCHOFF, HOFFMANN, FLÜGEL, HERXHEIMER, NEISSER, SCHAUDINN, BUSCHKE und FISCHER und viele andere). FINGER und LANDSTEINER fanden die Treponemen sogar bei der 12. Affenpassage in den Primäraffekten. Außer in den manifesten akuten und chronischen Produkten der experimentellen Affensyphilis, selbst nach vielen Passagen, sind die Treponemen aber auch in den inneren Organen vorhanden, wie NEISSER durch positive Impfungen mit Organbrei wahrscheinlich gemacht hatte. SCHAUDINN (1905) wies zuerst Pallidae in Milz und Knochenmark bei einem Makaken 7 Monate nach der Impfung nach; bald folgten ähnliche Befunde von anderen (s. auch S. 426 und 432).

In geradezu unglaublichen Mengen wurden die Treponemen bei der Kaninchen-, Hoden- und -Hornhautsyphilis gefunden (BERTARELLI, TRUFFI u. a.).

5. Zusammenfassung.

Dem vorstehenden kurzen Überblick über die Entwicklung und die Hauptergebnisse der Treponemaforschung soll nun nicht noch weiteres langwieriges statistisches Material hinzugefügt werden (siehe GLASS, MULZER, HOFFMANN, SOBERNHEIM in: „KOLLE-WASSERMANN", LEVADITI-ROCHÉ und andere Sammelwerke). Die gemachten Andeutungen genügen, um zu zeigen, daß das *Treponema pallidum* mit voller Berechtigung als ein für die Menschen- und Tiersyphilis charakteristischer Mikroorganismus bezeichnet ist, der bei nichtsyphilitischen Menschen und Tieren konstant vermißt wird.

C. Material und Untersuchungsmethoden.

I. Entnahme des Untersuchungsmaterials.

Die Art der Materialentnahme ist für den Erfolg der Untersuchung sowohl frischer als gefärbter Präparate ausschlaggebend. Fehler haben häufig negative Befunde zur Folge. Die meisten negativen Untersuchungsresultate, namentlich der ersten Zeit der Pallidaforschung sind durch Fehler bei der Materialentnahme, Färbung und Untersuchung zu erklären oder durch Ungeübtsein im Erkennen der sehr zarten Gebilde. SCHAUDINN und HOFFMANN hatten bei ihren ersten Untersuchungen den Gewebssaft aus der Mitte des Gewebes von exzidierten Primäraffekten und Papeln ausgepreßt. Eine Exzision ist jedoch keineswegs notwendig. Die Treponemen finden sich sehr häufig schon im Sekret nässender Affektionen, sicherer aber im sog. „**Reizserum**" (HOFFMANN). Solches erhält man, indem man offene Affektionen nach Entfernung der Borken und

Reinigung mit steriler Kochsalzlösung mittels Platinöse oder dgl. oder trockenem Tupfer reibt, oder indem man sie oberflächlich mit Kürette, Lanzette, Skalpell oder Platinspatel abschabt, möglichst ohne stärkere Blutung zu veranlassen. Alsdann sickert gewöhnlich nach kurzer Zeit — oft muß man einige Minuten Geduld haben — reichlich seröse Flüssigkeit hervor, die man in Kapillaren auffangen und dann oder auch unmittelbar auf Objektträger bringen kann. Durch intermittierendes Drücken (Massieren) kann man dem Serumfluß nachhelfen. Durch Quetschen mit einer Pinzette erhält man „Quetschserum". Abgeschabte Gewebspartikel verreibt man in Kochsalzlösung. Vorher mit Antisepticis behandelte Affektionen müssen vor der Materialentnahme 1—2 Tage lang mit indifferentem Verband (Kochsalzlösung) versehen werden.

Bei Untersuchung von geschlossenen syphilitischen Produkten punktiert man entweder mittels einer gut ziehenden Spritze mit nicht zu enger scharfer Kanüle (z. B. bei Drüsen und Gummen) oder man schabt (z. B. bei geschlossenen Papeln) mit einem Messer die Hornschicht ab und sucht (möglichst ohne Blutung) Gewebssaft zu gewinnen. Zu beachten ist, daß die Materialentnahme bei Gummen und tertiären Geschwüren aus den Randzonen erfolgen muß; auch bei der Drüsenpunktion soll man das Material möglichst von der Rindenschicht kräftig aspirieren (HOFFMANN). Von Blasen- und pustulösen Effloreszenzen gewinnt man das beste Material durch Abkratzen aus dem Grunde der Affektion.

Blut entnimmt man zur Pallidauntersuchung aus der Fingerbeere oder aus der gestauten Kubitalvene. NOEGGERATH und STAEHELIN (1905) empfehlen, mindestens je 1 ccm Blut in zehnfachem Volumen ⅓prozentiger Essigsäure aufzulösen: Spirochäten im Zentrifugat.

RAVAUT und PONSELLE (1906) wiesen im Blut eines kongenital syphilitischen Kindes die Parasiten folgendermaßen nach: Blut wird tropfenweise im Reagenzglas mit destilliertem Wasser aufgefangen. Die roten Blutkörperchen lösen sich dann auf und es bildet sich ein Koagulum, das fast lediglich aus weißen Blutkörperchen, eventuell mit Treponemen besteht. Auswaschen. Einbetten und färben nach LEVADITI. — TRINCHESE (1910) wendete eine ähnliche Methode an: er ließ das entnommene Blut gerinnen, bettete ein und färbte nach LEVADITI.

LEVADITI und PETRESCO (1905) haben für den Treponemanachweis in Roseolen, geschlossenen Papeln u. dgl. empfohlen, durch Auflegen von Kantharidenpflaster eine Blase ziehen zu lassen und deren Inhalt nach 6—8 Stunden zu untersuchen. FLEXNER (1905) sowie HERRMANN (1905) gebrauchten Ammoniak als Vesikans. HERRMANN legte unter einem Uhrglas kleine, mit 28-prozentiger Ammoniaklösung getränkte Wattebäuschchen 3—4 Minuten lang auf; nach 15 Minuten Blase. Auch Chloroform wurde

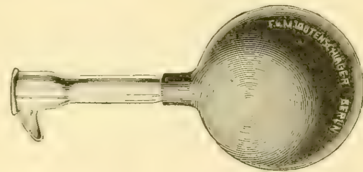


Fig. 1. Sauger nach SCHUBERG und MULZER ½ natürlicher Größe.

zum Blasenziehen angewendet. ZABOLOTNY (1907) empfahl, nach leichter oberflächlicher Skarifikation der Effloreszenz einen BIER'schen Sauger zur Serumgewinnung aufzusetzen. SCHUBERG und MULZER (1909) haben einen besonderen zweckmäßigen „Sauger zur Entnahme von Serum" angegeben, der eine Modifikation des BIER-KLAPPschen Saugers darstellt. An der Glocke des Saugers (Abb. 1), nahe dem freien Rande, ist ein Glasröhrchen angeschmolzen, dessen geschlossenes Ende etwas gegen den Gummiballon zu geneigt ist. Beim Saugen sammelt sich die Flüssigkeit in dem Röhrchen.

Aus inneren Organen muß der Gewebssaft, wenn nicht aspiriert, von frischer Schnittfläche entnommen werden. Entweder streicht man von dem ausgedrückten Saft aus, oder man macht von Organbrei Ausstriche, oder am besten Organtupfpräparate: Kleine frisch exzidierte Organstückchen werden mit der Pinzette gefaßt, dann tupft man mit der Schnittfläche schnell hintereinander Serien von Tupfstellen in 2—3 Reihen auf mehrere Objektträger auf (MÜHLENS). Besonders die zweiten und folgenden Objektträger-Serien werden brauchbar. Zweckmäßig legt man die gut lufttrockenen Präparate vor der Färbung 5—10 Minuten in destilliertes Wasser zum Ausziehen der Serumbestandteile, der roten Blutkörperchen usw. So erhält man viel klarere Bilder ohne Niederschlag. Auch aus in Formalin aufbewahrten Organstücken lassen sich von frischer Schnittfläche nach Jahren noch Ausstriche für GIEMSA-Färbung machen, nach SCHMORL (1907) auch durch Zerquetschen. ZABEL (1907) brachte die Stückchen in destilliertes Wasser und tupfte dann von frischer Schnittfläche ab.

II. Technik der Lebenduntersuchung.

Den ersten Pallidabefund erhob SCHAUDINN im frischen Präparat. Für die Erkennung der so außerordentlich zarten Gebilde ist in erster Linie ein tadelloses optisches System (guter Apochromat, Kompensationsokular 6, 8 oder 12) und gute gleichmäßige Beleuchtung (Auer-Gasglühlicht mit Schusterkugel, Grätzinlicht, Bogenlicht oder Nernstlampe mit Abblendung, am besten durch Senken des Kondensors) erforderlich.

Das Material wird entweder im hängenden Tropfen untersucht, eventuell etwas mit Kochsalzlösung verdünnt (SCHAUDINN und HOFFMANN), oder man bringt es zweckmäßiger auf einen sauberen Objektträger, legt ein Deckglas (ohne Luftblasen) auf und umzieht dieses mit Vaseline oder Wachs oder noch besser mit Vaseline und Wachs (BEER). Namentlich die mit (durch Anzünden des Dochtes) verflüssigtem Wachs von kleinen gelben sog. Wachsstockkerzen umrandeten Präparate sind lange haltbar und ermöglichen längere Beobachtungen. Die Beweglichkeit bleibt deutlicher und länger erhalten als im hängenden Tropfen.

Einen ganz gewaltigen Fortschritt in der Spirochätenforschung bedeutete die **Untersuchung im Dunkelfeld**, auf deren Bedeutung für den Pallidanachweis zuerst LANDSTEINER und MUCHA (1906) und bald darauf HOFFMANN und BEER (1906) aufmerksam machten. Die ultramikroskopische Untersuchung ist bisher noch von keiner Untersuchungsmethode an Sicherheit und Schnelligkeit übertroffen. Die sog. Dunkelfeldbeleuchtung bewirkt bekanntlich ein helles Aufleuchten selbst der feinsten Untersuchungsobjekte auf dunklem schwarzem Untergrund. Dies kommt dadurch zustande, daß durch Einschalten einer zentralen Blende eine seitliche Beleuchtung und somit ein Aufleuchten der Objekte herbeigeführt wird. Für die Dunkelfeldbeleuchtung ist vor allen Dingen eine sehr starke Lichtquelle erforderlich: Sonnenlicht, Bogenlampe, eventuell Gasglühlicht, Acetylen- oder Spiritusgasglühlicht mit Schusterkugel, Nernstlampe (Zeiß). Bezüglich der optischen Erklärung, der Konstruktion und Wirkung der verschiedenen angegebenen ziemlich gleichwertigen Dunkelfeldbeleuchtungsapparate sei auf die Spezialliteratur verwiesen, die insbesondere auch in einer Zusammenstellung von Carl Zeiß-Jena (s. Literaturverzeichnis) zu finden ist. Daselbst sind insbesondere auch die grundlegenden Arbeiten von SIEDENTOPF und ZSIGMONDY (bei Zeiß-Jena) angeführt. Hier sei nur noch hervorgehoben, daß sich fast gleichmäßig die bekannten Firmen Reichert-Wien und Zeiß-Jena, sodann auch E. Leitz-Wetzlar um die Nutzbarmachung der Dunkelfeldbeleuchtung für den Pallidanachweis verdient gemacht und daß sie gute Apparate in den Handel gebracht haben, zum Teil mit besonderen zweckmäßigen Beleuchtungsapparaten (s. die Ab-

bildungen und Spezialkataloge der Firmen). Landsteiner und Mucha hatten zuerst den **Reichert**'schen **Plattenkondensor** mit 20 Ampère-Bogenlampenbeleuchtung schon im Jahre 1906 in der Wiener Dermatologischen Gesellschaft demonstriert. Hoffmann und Beer benutzten anfangs das Zeiß'sche Ultramikroskop mit **Wechsel-**

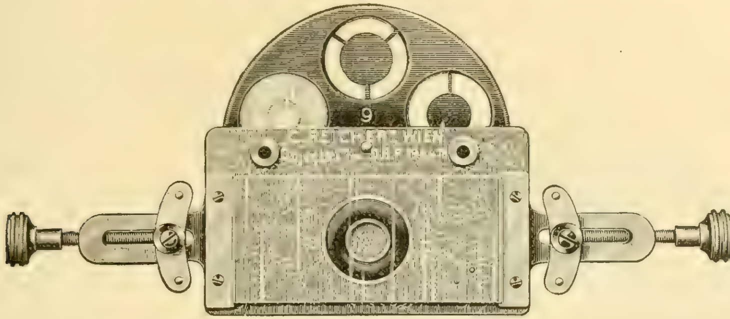


Fig. 2. Plattenkondensor (Reichert-Wien). Neustes Modell mit Revolverblende.

kondensor nach Siedentopf bei Beleuchtung mit selbstregulierender Projektions bogenlampe. Viel besser noch bewährte sich dann aber der einfachere, in jedes Mikroskop passende, auch von Siedentopf angegebene und verbesserte **Zeiß**'sche **Paraboloidkondensor** mit Nernstlampe (Abb. 3).

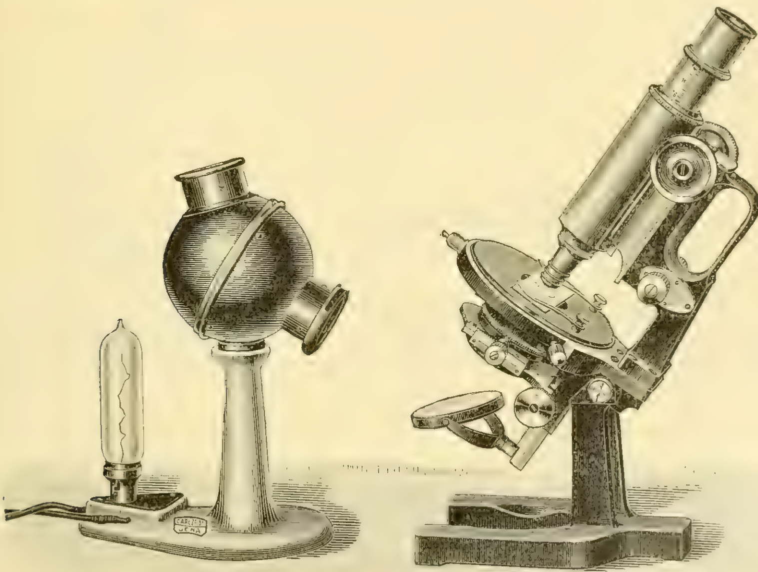


Fig. 3. Paraboloidkondensor (eingeschaltet) mit Nernstlampe (Zeiß-Jena).

Auch der preiswerte **Leitz**'sche **Plattenkondensor** (Abb. 4. u. 6) funktioniert gut. Die klarsten Bilder erhält man bei Untersuchungen mit starkem Trockensystem und starken Kompensationsokularen. Reichert u. Zeiß haben ein besonderes Objektiv für die Untersuchung im Trockensystem konstruiert. Will man mit Ölimmersion untersuchen, dann muß eine Trichterblende (Abb. 5) in das Immersionssystem eingeschaltet werden. Zu beachten ist, daß der Abbé'sche Kondensor auszuschalten ist, und daß das Präparat nicht unmittelbar auf den Dunkelfeldkondensor aufgelegt

wird, sondern vermittels eines großen Tropfen Zedernöls (Luftblasen dabei vermeiden!). Die Objektträger dürfen nicht zu dick, müssen absolut sauber und ebenso wie die Deckgläser frei von Krätzen u. dgl. (am besten geschliffen und neu) sein.

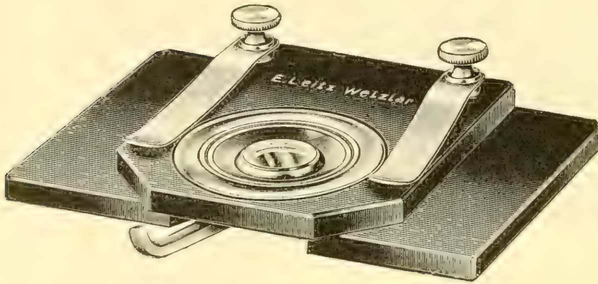


Fig. 4. Plattenkondensor. (Leitz-Wetzlar.)



Fig. 5. Trichterblende.

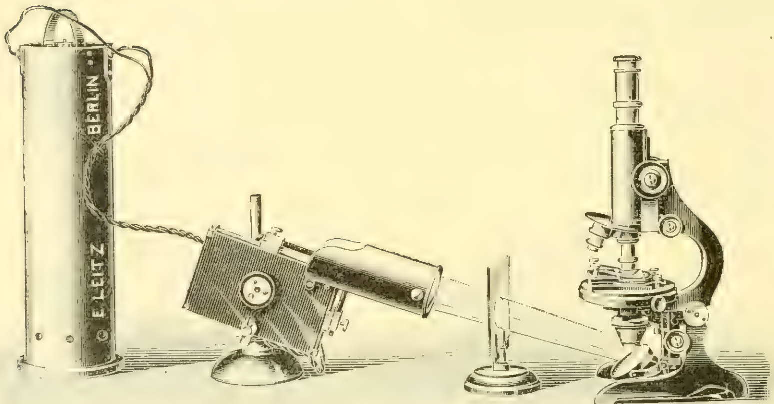


Fig. 6. Dunkelfeld-Untersuchung mit Leitz'schem Apparat. (Bogenlicht mit Widerstand.)



Fig. 7. Zentralbande für Dunkelfeldbeleuchtung.

Erwähnt sei hier auch noch das von Cotton und Mouton (1903) angegebene Spiegelprisma sowie die ältere Methode der Einschaltung einer Zentralblende (Abb. 7) in den Diaphragmenträger des Abbé'schen Beleuchtungsapparates; ebenfalls Untersuchung mit starker Lichtquelle nach Auflegen des Objektträgers mittels Zedernöls.

Arning (1907) benutzte die Dunkelfeldbeleuchtung mit großem Erfolg zum Suchen nach Treponemen in Giemsa-Präparaten und auch zur Photographie. Die Pallidae erscheinen in der Tat trotz intensiver Färbung (auch in Loeffler-Präparaten) leuchtend weiß. Die Ausstriche dürfen aber nicht zu dick sein. Selbst in Levaditi-Schnitten erglänzen die in durchfallendem Lichte

sich tiefschwarz darstellenden Spirochäten bei Dunkelfeldbeleuchtung „in silbriger Weiße“. KLEIN (1908) hat Photogramme von in der ARNING'schen Klinik bei Dunkelfeldbeleuchtung aufgenommenen GIEMSA-Präparaten in seinen reich illustrierten Mitteilungen abgebildet. Die Mikrophotogramme sind von Dunkelfeldaufnahmen der lebenden Pallida nicht zu unterscheiden.

Vitalfärbung s. S. 388.

III. Technik der Untersuchung im gefärbten Präparat.

Die Schwierigkeiten der Untersuchung ergeben sich schon aus dem Umstande, daß für keinen Organismus so viele Färbemethoden angegeben worden sind wie für die Pallida.

1. Fixierung.

Für den Färbeerfolg sind gute, nicht zu dicke Ausstriche auf sauberen Objektträgern resp. Deckgläsern erforderlich. Nach Lufttrocknen fixiert man, entweder 10 bis 30 Minuten in absolutem Alkohol, oder 5—10 Minuten in Alkohol-Äther āā. SCHAUDINN hatte auch kurze Osmiumfixierung empfohlen nach POSNER: Das frische Präparat wird einige Sekunden über die breite Öffnung einer dunklen Flasche gehalten, auf deren Boden sich einige Osmiumkristalle befinden. — v. PROWAZEK (1906) sowie HOFFMANN und HALLE (1906) erreichten gute Darstellung der Treponemen nach dem WEIDENREICH'schen Fixierungsverfahren für Bluttrockenpräparate (das, wie v. PROWAZEK mitteilt, ihm von WEIDENREICH empfohlen war): Man streicht das zu unsersuchende Sekret möglichst schnell in einem Zuge auf einen vorher Osmiumdämpfen ausgesetzten Objektträger über die osmierte Seite aus; zur Vollendung der Fixierung wird das Präparat 1—2 Minuten über Osmiumdämpfe in die Osmiumkammer (5 ccm Osmiumsäure und 10 Tropfen Eisessig in flacher Glasdose) zurückgebracht. Die so fixierten Präparate kommen dann 1 Minute in eine sehr dünne hellrote Kaliumpermanganatlösung, werden abgespült, getrocknet und färben sich dann gut nach GIEMSA. — Auch nach Formalinfixierung erhält man, wie mehrfach berichtet ist, befriedigende GIEMSA-Färbung. — Legt man keinen besonderen Wert auf die Erhaltung bzw. Darstellung morphologischer Feinheiten, dann genügt Hitzefixierung (dreimaliges Durchziehen durch die Flamme). — Kürzlich angestellte vergleichende Untersuchungen bestätigten, daß eine Fixierung der Präparate für die GIEMSA-Färbung gar nicht notwendig ist (auch schon von v. PROWAZEK u. a. angeführt). MÜHLENS erhielt schnelle und intensive GIEMSA-Färbung der Ausstriche, wenn er die in schwach alkalischem destilliertem Wasser aufgelöste Farbe auf den gut lufttrockenen, nicht fixierten Objektträgerausstrich (nach Art der Färbung des dicken Bluttropfens s. Bd. I, S. 15) aufgoß und ½—1 Stunde einwirken ließ. Man muß dann nur nach der Färbung vorsichtig mit dem Präparat manipulieren, damit die Schicht nicht abgeht. Die Abspülung geschieht nicht durch Wasserstrahl, sondern durch vorsichtiges Eintauchen in 1 Glas Wasser. Lufttrocknen, nicht zwischen Fließpapier. — Solche Präparate zeichnen sich ebenso wie Ausstriche, die man vorher in destilliertem Wasser ausgelaugt hat (S. 377), durch wenig Niederschläge und daher besseres Hervortreten der Treponemen aus (s. Tafel IX, Fig. 7) Außerdem kann man — analog der Tropfenmethode bei Malaria usw. — wesentlich mehr Untersuchungsmaterial in dickeren Tropfen konzentriert verwenden. Vielleicht lassen sich mit der Bluttropfenmethode auch die Treponemen im Blut, z. B. bei Lues congenita, färben.

Es ist unmöglich, sämtliche für die Darstellung der Pallida angegebenen Färbemethoden hier der Reihe nach aufzuzählen. Ich beschränke mich daher auf eine Anzahl der historisch interessanten sowie wichtigsten und praktischsten, die am meisten beachtet worden sind.

2. Färbungen mit Giemsa-Farbstoff.

Alte Methode Schaudinn-Hoffmann (1905).

Schaudinn und Hoffmann gelang bei den ersten Versuchen die Darstellung des Treponema nach 10 Minuten langer Alkoholfixierung nur durch folgende Modifikation der Giemsa'schen Azur-Eosin-Methode: Die Deckglaspräparate kamen auf 16—24 Stunden in eine frisch hergestellte Mischung von:

1. 12 Teilen Giemsa's Eosinlösung (2,5 ccm 1prozentiger Eosinlösung auf 500 ccm Wasser);
2. 3 Teilen Azur I (1:1000 Wasser);
3. 3 Teilen Azur II (0,8:1000 Wasser).

Kurze Wasserspülung. Untersuchung in Zedernöl.

Giemsa's Methode für die Färbung von Trockenausstrichen (1905).

Als zweckmäßig und schneller zum Ziel führend erwies sich bald, wie Giemsa zeigte, die Färbung mit der fertigen „Giemsa-Lösung (1904) zur Erzielung der Romanowsky-Färbung" (zu beziehen Grübler-Leipzig). Die Zusammensetzung dieser Stammlösung sowie die allgemeinen unbedingt zu beachtenden Regeln und die Technik der Giemsa-Färbung sind im ersten Hefte dieses Handbuchs S. 26ff. eingehend von Giemsa besprochen. Färbeoptimum nach Giemsa in 1 Stunde. Die wichtigsten **Modifikationen** sind:

Schnellfärbemethode nach Preis (1906).

Zu einer zum Eindritteile mit destilliertem Wasser (= 10 ccm) gefüllten Eprouvette werden 25 Tropfen Giemsa-Lösung zugefügt und nach Mischung gleich auf das kurz in der Flamme fixierte Objektträgerpräparat gegossen. Erhitzen 5 cm hoch über einer Bunsenflamme zu mäßiger Dampfbildung (nicht kochen!). Abgießen. Wiederholung der Färbung 3—4 mal. Durchziehen durch Wasser. Fließpapier.

Alte Schnellfärbemethode nach Giemsa (1907).

Giemsa stellte fest, daß häufige Mißerfolge bei der Preis'schen Färbung durch den Überschuß von Farblösung bedingt seien. Er färbte daher die fixierten Ausstriche in ähnlicher Weise wie Preis viermal über der Flamme, aber mit einer Farbmischung je 1 Tropfen auf 1 ccm Wasser, vgl. Bd. I S. 28.

Schnellfärbung nach Loeffler (1907).

1. Fixieren mit Alkohol absol. u. Äther $\overline{aa}$.
2. Vorfärben mit je 3 Tropfen 0,5prozentiger Lösung von Natrium arsenicosum und 1 Tropfen 0,5prozentiger wässeriger Lösung von Malachitgrünkristalle-Chlorzinkdoppelsalz (Hoechst). 1 Minute erwärmen bis zur Dampfbildung.
3. Kräftige Wasserspülung.
4. Nachfärbung mit siedend heißer Lösung von je 1—2 Tropfen Giemsa-Farbe in je 1 ccm 0,5prozentiger Glyzerinlösung 1—5 Minuten lang. Wasserspülung.

Wichtig bei den Loeffler'schen Färbungen war die Feststellung, daß sich Giemsa-Farbstoff in heißer Glyzerinlösung gut, selbst im Überschuß löst. Dies kommt auch zum Ausdruck in der:

Schnellfärbung nach Schereschewsky (1907).

1. Kurze Fixierung der noch feuchten Objektträgerausstriche in Osmiumdämpfen. Lufttrocknen. Dreimaliges Durchziehen durch die Flamme.
2. Übergießen der Präparate mit bis zum Sieden erhitzter Lösung von je 13 Tropfen Giemsa-Farbe in je 10 ccm 0,5prozentiger Glyzerinlösung. 2 Minuten färben. Abgießen.
3. Zwei- bis dreimalige Wiederholung der Färbung.

Bei dieser Methode ist eine Fixierung der Präparate nicht notwendig. Beim Aufgießen der heißen Farblösung werden die lufttrockenen Ausstriche genügend fixiert

und es genügt alsdann in der Regel schon einmalige 10—15 Minuten lange Färbung. Eintauchen in Wasser. Lufttrocknen.

Neue Schnellfärbung nach Giemsa (1910). Acetonmethode.

Methodik s. Bd. I S. 28.

Bei dieser Schnellfärbung der unfixierten Ausstriche machen sich häufig, namentlich bei Organausstrichen störende Niederschläge unangenehm bemerkbar. Diese lassen sich wie Giemsa und Mühlens kürzlich ausprobierten, zum Teil vermeiden, wenn man die lufttrockenen Präparate vor der Färbung kurze Zeit in destilliertes Wasser legt (s. S. 375). So konnten namentlich auch von Kaninchen-Primäraffekt-Ausstrichen und -Tupfpräparaten (Tafel VIII Fig. 4) sowie Organtupfpräparaten (Tafel IX Fig. 1, Loeffler-Fbg.) schöne Bilder erzielt werden.

Man kann also folgendermaßen sicher färben:

1. Lufttrocknen der nicht zu dicken Ausstriche. Auslaugen einige Minuten in Aqu. dest. Vorsichtig lufttrocknen.

2. In Petrischale oder Färbewännchen einlegen, Schichtseite oben. Aufgießen von Giemsa-Lösung-Aceton-Gemisch aa, bis Objektträger vollkommen gut bedeckt ist (ca. 15—20 Tropfen). Einwirkenlassen 1—2 Minuten.

3. Hinzugießen von 15 ccm schwach alkalisierten Wassers (1—2 Tropfen 1prozentiger Natronlauge zu 50 ccm Wasser). Gut mischen. 8—10 Minuten einwirken lassen. Wasserspülung usw.

Die Schnellfärbungen, namentlich die nach Preis, Loeffler, Giemsa (alt) und Schereschewsky geben meist sehr intensive Färbebilder des Treponema, das dann den Beinamen „pallidum“ kaum noch verdient. Der Farbenton ist dunkler, häufig dunkelrot-blauviolett. Auch die Dicke ist entsprechend wesentlich stärker als bei den langsamen klassischen Färbemethoden von Schaudinn und Giemsa (1905), bei denen die Treponemen sich zart blaß-rosarot in charakteristischer Form darstellen lassen, während die anderen (Refringens-) Spirochäten mehr blau-violett aussehen.

Giemsa hat noch besonders darauf aufmerksam gemacht, daß die Färbekraft der Giemsa-Lösung durch geringen Alkalizusatz (1—10 Tropfen einer 1 : 1000 Kaliumkarbonatlösung zu 10 ccm Wasser) noch erhöht wird. Saures Wasser macht die Giemsa-Färbung unmöglich. — Überfärbte Präparate lassen sich in destilliertem Wasser (1—5 Minuten) differenzieren. R. O. Neumann (1905) empfahl, die Niederschläge in 90prozentigem Alkohol aufzulösen und dann nochmals mit Giemsa-Lösung (ohne Alkalizusatz) kurze Zeit nachzufärben. A. Kraus (1906) entfernte die Niederschläge durch Einbringen der Präparate ½ Minute lang in 30prozentige wässerige Tanninlösung.

Für das Studium der morphologischen Details kommt auch noch in Anwendung:

Die Giemsa-Feuchtmethode.

Technik ist ausführlich auf S. 28 im ersten Heft angegeben.

Färbung mit Leishman's Farblösung.

Technik Bd. I S. 26. Hauptsächlich von den Engländern an Stelle der Giemsa-Lösung verwendet mit ähnlichen Färberesultaten.

Färbung mit Wright'scher Blutfärbemischung.

Manaham (1906) brachte einige Tropfen derselben aufs Deckglaspräparat, bis es bedeckt war. 1 Minute färben. Dann tropfenweise Wasser hinzufügen, bis ein metallisch glänzendes Häutchen auf der Farbmischung erschien. Nach 5 Minuten Wasserspülung usw.

In ähnlicher Weise läßt sich auch mit Giemsafarbe färben; ca. 6—10 Tropfen auf unfixierten Objektträgerausstrich aufgießen. Dann vorsichtig nach 1—2 Minuten ca. 3—5 ccm Wasser zufügen. Nach 5—10 Minuten eintauchen in Wasser. Lufttrocknen (Mühlens). Vgl. auch p. 375.

3. Färbungen mit einfachen Farben.

Gentianaviolettfärbungen.

Gonder und Hoffmann (1905) färbten mit frischer Fuchsin- und Anilinwasser-Gentianaviolettlösung 24 Stunden lang (erwähnt von Schaudinn).

Oppenheim und Sachs sowie Ploeger gaben fast gleichzeitig im Jahre 1905 Färbung mit Karbolgentianaviolettlösung an, ohne vorherige Fixierung. Die ersteren färbten in einer Lösung von 100 ccm wässeriger Karbolsäurelösung und 10 ccm konz. alkohol. Gentianaviolettlösung unter Erwärmen bis zur Dampfbildung. Vorsicht beim Abspülen und Trocknen! Pallidae deutlich blau. — Ploeger tauchte seine Präparate in eine ähnliche Lösung mit 2½% Karbolsäure eine Minute lang ein. Abspülen usw. Treponemen blaßlila.

Herxheimer (1905) färbte mit einer heißgesättigten, nach Abkühlen filtrierten Gentianaviolettlösung (10 : 100 Wasser) nach vorheriger Alkoholfixierung 15 Minuten lang, oder nur 1 Minute lang bis zur Dampfentwicklung.

MacLennan (1906) verwendete eine Lösung von je 1 Teil gesättigter Aceton-Gentianaviolettlösung zu 3 Teilen Wasser.

Fusco (1906) beizte vor der Färbung mit Gentianaviolett oder Methylenblau mittels 5prozentiger wässeriger Chromsäurelösung.

Klausner (1911) färbte nach Osmiumfixierung 20—30 Sekunden über der Flamme mit Anilinwassergentianaviolett (Anilinwasser 2 Teile + konzentr. alkohol. Gentianaviolettlösung 1 Teil). Wasserspülung usw.

Andere einfache Färbungen.

Bandi und Simonelli (1905) gaben an, daß sich die Pallida mit Ziehl'scher Lösung und mit gewöhnlichen alkoholisch gelösten Anilinfarbstoffen in wenigen Sekunden in der Hitze besser färbte als nach der Giemsa-Methode. Auch viele andere wendeten die Karbolfuchsinfärbung (konzentriert und verdünnt) ebenso wie schon Schaudinn (1905) an.

Davidsohn (1905) färbte mit frisch filtrierter Kresylviolettlösung (R extra der Mülheimer Farbenfabriken), eine Messerspitze voll in 100,0 dest. Wasser kalt gelöst, ½—40 Stunden lang. Der Erfolg war von der Färbedauer abhängig.

Weitlaner (1905) konnte die Pallida angeblich auch mit Loeffler's Methylenblau darstellen.

H. Ehrlich und Lenartowicz (1908) setzten Karbol 1—5% zu den verschiedensten Farbstoffen zu: Ziehl's Lösung färbte in 1½—2 Minuten, Karboldahlia in 5—10 Minuten, Karbolthionin in 25—30 Minuten.

Ballenger (1909) benutzte 5—6prozentige wässerige Dahlialösung.

Shmamine's (1911) Methode: 1. Fixieren der Deckglasausstriche vorsichtig in Flamme oder besser mit Methylalkohol. 2. Auftropfen von 3—4 Tropfen einer 1%igen Kalilaugelösung. 3. Ohne Abspülen sofort einige Tropfen wässeriger Fuchsin- oder konzentrierter wässeriger Kristallviolettlösung hinzufügen. 3 Minuten färben. Gute Färberesultate. Pallida zart, Refringens intensiv gefärbt.

4. Färbungen mit Farbgemischen bzw. Beizefärbungen.

Marino (1905) färbte mit Marinoblaulösung (0,04 g Azurblau in 20 g Methylalkohol). Ca. 1 ccm auf Deckglas aufgießen. Nach 3 Minuten langer Einwirkung ohne Abspülung nachfärben mit wässeriger Eosinlösung 1 : 20000, 1—2 Minuten.

Zabolotny (1905) beizte mit 5prozentiger Karbolsäurelösung und färbte dann ¼ Stunde lang mit einem frisch bereiteten Gemisch aus 0,1% Azur und 0,2% Eosin unter Erwärmen.

Reitmann (1905) brachte die Präparate nach Alkoholfixierung durch Aqu. dest

auf 5 Minuten in 2prozentige Phosphorwolframsäure. Aqua dest. 70prozentiger Alkohol. Aqu. dest. Dann färben mit unverdünnter Karbolfuchsinlösung unter Erwärmen über der Flamme bis zur Dampfbildung. Kurzes Umschwenken in einer Schale mit 70prozentigem Alkohol. Wasser. Spirochäten „ziemlich intensiv und präzise rot gefärbt".

RILLE (1905) färbte die in Alkohol fixierten und in Salpetersäure und Kreosot (Aqu. dest. 100, Acid. nitr. 10, Creosot. gtts nonnull.) gebeizten Präparate in heißem LOEFFLER'schem Methylenblau.

BERGER (1906) verfuhr folgendermaßen: Alkoholfixierung. Vorbehandlung einige Minuten lang mit einigen Tropfen Azur II-Lösung nach GIEMSA. Abspülen. Trocknen. Kurzes Durchziehen durch Flamme. Dann färben 3—5 Minuten lang mit einer Dahliastammlösung (= 4ccm konz. alkoh. Dahlialösung in 20ccm Aqu. dest. Abspülen usw.) — Oder: Nach Fixierung auftropfen von 5 Tropfen LOEFFLER-Methylenblau; nach ½ Minute hinzufügen von 3 Tropfen Azur II; nach ½ Minute 6 Tropfen GIEMSA-Lösung. Nach 2 Minuten Wasserspülung.

MAC NEAL (1907) färbte etwa 1 Minute lang in folgender Lösung: 1. Methylenviolett (roh) 0.25; 2. Methylenblau (med. pur.) 0.1; 3. Eosin (gelblich) 0.2; 4. Methylalkohol (rein) 100.0. Abspülen 2 Minuten in Natronkarbonat 1 : 20000. Wasser. Untersuchung in Wasser.

KALB (1910) gab eine etwas komplizierte Färbung an, die anscheinend Übung erfordert und bei der die Treponemen auf rotgefärbtem Untergrunde weiß erscheinen. Färben unter 1—2maligem Erwärmen bis Dampfbildung in der folgenden (vor dem Gebrauch zu schüttelnden) Mischung: Eosin B A 0.5g. 70prozentiger Alkohol 50.0 g. Triacid 30.0 g. Wasserspülung. 2—3maliges Übergießen mit Essigsäure 1 : 10. Eventuell noch Nachbehandlung mit 20prozentiger wässeriger Tanninlösung.

LENARTOWICZ und POTROZOBOWSKI (1910) gaben auch eine Methode an, bei der die Pallidae auf Rosa-Untergrund als Negativ erscheinen:

1. Ausstriche auf gut gereinigten, 5 Sekunden lang über ½—2prozentiger Osmiumsäure osmierten Objektträgern.
2. Weiterhin fixieren 10—20 Sekunden über Osmiumsäurelösung.
3. Färbung mit ZIEHL'scher Lösung ¼—1 Minute. Wasserspülung.
4. Eventuell Kontrastfärbung mit konzentr. alkohol. Methylenblau- oder 10prozentiger Karbolmethylenblaulösung (dabei färben sich nur die anderen Spirochäten, während die Pallidae weiß bleiben sollen).

W. H. HOFFMANN (1910) hatte mit dieser Methode keine zuverlässigen Resultate.

GHOREYEB (1910) erzielte eine Schwärzung der Treponemen durch folgende Prozeduren:

1. 1prozentige Osmiumsäure 30 Sekunden lang einwirken lassen.
2. Fließendes Wasser.
3. Liqu. Plumbi subacetici $^1/_{100}$ mit H_2O verdünnt, frisch bereitet, 10 Sekunden.
4. Nach Abspülen: 10 Sekunden 10prozentiges Natriumsulphid.
5. Abspülen. — Dreimal wiederholen! Zum Schluß nochmals Osmiumsäure 30 Sekunden. Abwaschen. Trocknen.

5. Färbung mit LOEFFLER-Beize.

Mit der für die Bakteriengeißelfärbung angegebenen Methode (Bd. I S. 29) kann man eine intensive Färbung erzielen, wie schon SCHAUDINN und HOFFMANN zeigten. Die Präparate müssen aber möglichst dünn (nach vorheriger Verdünnung des Ausgangsmaterials) ausgestrichen sein, da sonst die dunkle rote Tinktion des umgebenden Mediums zu sehr die Spirochätenstruktur verdeckt. SCHAUDINN färbte nach Beizung mittels der fertig käuflichen LOEFFLER-Beize mit ZIEHL'scher Lösung unter Erwärmen nach.

Borrel und Burnet (1906) verfuhren folgendermaßen: Exzision von kleinen Gewebsstückchen. Abkratzen von Material mit Skalpell. Übertragen hintereinander auf mehrere Deckgläser, die vorher mit je 1 Tropfen Aqu. dest. beschickt waren. Dann Loeffler-Färbung wie Schaudinn.

Mühlens (nicht publiziert) konnte selbst in dicken Ausstrichen und Organ-Tupfpräparaten (Technik S. 372) nach vorherigem Auslaugen in Aqu. dest. gute Loeffler-Beize-Färbungen erzielen (Tafel VIII, Figg. 10—30 und IX, 1—4, 8 u. 9).

6. Andere „Geißel"-Darstellungsmethoden.

Außer nach der schon angegebenen, sich gut für die Darstellung der geißelartigen Fortsätze eignenden Loeffler-Methode kann man die „Geißeln" auch nach der Zettnow'schen Methode oder durch die van Ermengem'sche Versilberung nach vorheriger Beizung zur Ansicht bringen.

Nach Schaudinn u. a. lassen sich die „Geißeln" auch mit intensiver Giemsa-Färbung, nach Herxheimer (1905) mit gesättigter Gentianaviolettlösung (s. vorher) darstellen.

Forest (1906) erreichte Geißelfärbung, wenn er nach 14—16stündigem Färben in gewöhnlicher Giemsa-Lösung die Flüssigkeit etwa $^1/_2$ Stunde lang bis zum Dampfen (ohne Kochen!) erhitzte. Abspülen in fließendem Wasser 2 Minuten lang.

Krzysztalowicz und Siedlecki (1905) erzielten die beste Spirochätenfärbung mit „Geißeln" für morphologische Studien, wenn sie osmiumfixierte Präparate lange mit Giemsa-Lösung färbten und dann einige Minuten in 25prozentiger Tanninlösung differenzierten. Abwaschen in destilliertem Wasser. Kurzes Eintauchen in absoluten Alkohol schadet der Färbung nicht. Es gibt dann schöne klare niederschlagsfreie Bilder: die *Spirochaeta pallida* zeigt einen violett-roten Farbenton, während die Refringens mehr bläulich erscheint.

Goldhorn (1905) konnte die „Geißeln" mit folgender Methode zeigen: Erhitzen einer Lösung von 2g Methylenblau und 2g Lithiumkarbonat in 200 g Wasser. Nach dem Erkalten Filtration durch Watte. Dann wurde eine Hälfte der Lösung mit 5prozentiger Essigsäure bis zu deutlich saurer Reaktion versetzt, hierauf beide Hälften gemischt und $^1/_2$prozentige Eosinlösung zugesetzt, bis die Farblösung blaßblau und leicht fluoreszierend erschien. Der entstehende Niederschlag wurde am nächsten Tage abfiltriert, getrocknet und zu ca. 1% in Methylalkohol gelöst. Mit dieser Farbe konnten nicht fixierte Ausstriche in wenigen Sekunden gefärbt werden.

7. Versilberungen im Ausstrich

Stern (1907) gibt folgende Methode an: Die in der üblichen Weise hergestellten lufttrockenen Objektträger-Präparate werden auf einige Stunden in den 37° Brutschrank gestellt. Dann kommen sie in eine 10prozentige wässerige Argent. nitricum-Lösung in einem farblosen Glasgefäß und bleiben darin einige Stunden bei diffusem Tageslicht stehen. Zu vermeiden ist direktes Sonnenlicht. Sobald die Präparate bräunlich und metallisch glänzend aussehen, sind sie fertig und werden in Wasser abgespült. Die Treponemen erscheinen dann als schwarze oder dunkelbraune Spiralen.

Flexner (1907) hat diese Methode zuerst bestätigt und geringe Modifikationen angegeben.

Gastou (1908) empfiehlt die Commandon'sche Färbung: Verdünnung des Sekrets in 50prozentiger Albuminlösung. Fixation in Flamme. Einwirkenlassen einer 10prozentigen Arg. nitr.-Lösung bei Tageslicht 1 Tag lang oder 5 Minuten bei Sonnenlicht, bis Präparat dunkelbraun. Wasser. 5prozentige Pyrogallollösung; kann fehlen, wenn Licht intensiv genug war.

Chitrowo (1909) setzte nach Osmiumfixierung (selbst dicke) Ausstrichpräparate

in einer gesättigten alkoholischen (95prozentigen) Lösung von salpetersaurem Silber 4—6 Stunden lang zerstreutem Tageslicht aus. Wasserspülung und sofortige Untersuchung.

Sdrawomüslow (1910) beschreibt folgende Silberfärbung der *Spirochaeta pallida*. Nach Fixieren mit Osmiumdämpfen und Essigsäure Einlegen für 24 Stunden in frische 15prozentige Lösung salpetersauren Silbers im Thermostaten; abwaschen; einige Minuten frische 5prozentige Pyrogallussäure. Nach Abwaschen Wiederholung der Silber- und Pyrogallusbehandlung zweimal: zuerst wieder 24stündiges, beim folgenden Mal 1½stündiges Verweilen in der Silberlösung. Die Färbung soll intensiv und scharf sein.

8. Burri's Tuscheverfahren (1909).

Diese Methode ist eine der einfachsten und schnellsten und beruht auf der Beobachtung, daß in chinesischer Tusche alle Mikroorganismen auf dunklem Grunde ungefärbt weiß bleiben. Die sog. Pelikantusche ist von Grübler-Leipzig in kleinen Röhrchen konzentriert zu beziehen. 1 Tropfen Tusche, um das 5—10fache mit Wasser verdünnt, wird mit einem Tropfen Untersuchungsmaterial gemischt und auf einem fettfreien Objektträger gleichmäßig ausgestrichen. Nach Trocknen Untersuchung bei Ölimmersion. Die Treponemen erscheinen dann als feine weiße Spiralen in meist typischer korkzieherartiger Form auf braunem bis schwarzbraunem Untergrund, also ähnlich wie lebend im Dunkelfeld (Tafel X Figg. 7—14).

Zweckmäßig hält man sich gebrauchsfertige Tusche vorrätig, die man folgendermaßen herstellen kann: Man verdünnt die Originaltusche um das 5—10fache mit destilliertem Wasser, verteilt die Verdünnung zu je 3—4 ccm in Reagenzgläser mit dichtschließendem Wattepfropfen und sterilisiert dann im Dampf 2—3mal 1 Stunde. Dann läßt man die Tusche 2—3 Wochen sedimentieren. Erst dann ist sie gut gebrauchsfertig, darf aber nicht geschüttelt und muß auch vor bakterieller Verunreinigung bewahrt werden, indem man die Tusche für den Gebrauch jedesmal mit einer sterilen lang ausgezogenen Kapillarpipette aus den Reagenzgläsern entnimmt. Bleibt die Tusche nicht steril, dann stören die darin wuchernden Bakterien die Untersuchung häufig sehr. Zur Färbung wird 1 Tropfen der fertigen Tuschelösung mit 1 Tropfen des zu untersuchenden Materials gemischt und wie vorhin angegeben auf einem Objektträger ausgestrichen (etwa nach der Blutausstrichmethode).

Nach dem Tuscheverfahren ließen sich selbst aus alten luetischen Organen, die 2—3 Jahre in Formalin gelegen hatten, noch leicht Treponemen nachweisen (Hecht und Wilenko 1910).

Die Tuschemethode kann leicht von jedem Arzt ausgeführt werden und ist insofern die praktischste Darstellungsmethode. — Allerdings arbeitet sie, namentlich bei spärlichem Parasitenbefund, da viele Treponemen an zu dicken Stellen des Präparates verdeckt werden, lange nicht mit der Sicherheit der Dunkelfeldbeleuchtung, die als das sicherste Verfahren zum Pallidanachweis gelten kann.

Barach (1910) warnt gar vor dem Gebrauch chinesischer Tusche, weil in der Tusche mitunter spirochätenähnliche Objekte enthalten seien, die zu Irrtümern Anlaß geben könnten. — In Parenthese sei erwähnt, daß schon Errera im Jahre 1884 (Ref. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie 1885 Bd. II S. 84) die chinesische Tusche zum Nachweis von Mikroorganismen empfohlen hatte.

9. Epikrise.

Unter den anderen Färbemethoden behält die Giemsa-Färbung mit ihren verschiedenen Modifikationen immer noch die bevorzugte Stellung, namentlich wenn es gilt, die morphologischen und färberischen Charakteristika des Treponema schön zur

Darstellung zu bringen. Bei vielen der übrigen Methoden ist das Färberesultat häufig unsicher und durch Niederschläge, Mitfärben von Serumbestandteilen usw. sehr gestört. Auch sind häufig die morphologischen Charakteristika der Pallida mehr oder minder verwischt; und damit wird die Unterscheidung gegenüber anderen Spirochätenarten schwierig. Kommt es also auf feinere morphologische Studien oder eine exakte Diagnose an, so färbt man am zweckmäßigsten nach einer der Giemsa-Methoden, entweder nach der alten langsamen (1904) mit der fertigen Lösung (je 1 Tropfen auf 1 ccm Wasser mit Alkalizusatz) oder nach der p. 375 angegebenen Modifikation oder nach der Aceton-Schnellfärbungsmethode, nach vorherigem Auslaugen in destilliertem Wasser. Bei den anderen Schnellfärbungen (nach Preis und Schereschewsky) gehen meist die morphologischen Charakteristika mehr oder minder verloren.

10. Schnittfärbungen.

Methode von Herxheimer-Hübner (1905). H. und H. wollen einmal gleich in der ersten Zeit der Pallidaforschung in einem mit Nilblau gefärbten Schnittpräparat eines Primäraffekts Treponemen gesehen haben. Die Schnitte waren in Alkohol entwässert und in Nelkenöl aufgehellt. Die Methode fand aber keine Bestätigung.

Eisenhämatoxylinfärbung nach Gottberg (1908). Gottberg färbte mit dem Heidenhain'schen oder Hansen'schen Eisenhämatoxylingemisch im Gewebe.

Giemsa-Färbung nach Schmorl (1907). Stücke in 4%-Formalinlösung (nicht Alkohol) fixiert. Dünnste Gefrierschnitte in einer sauberen Schale in die für die Färbung nötige Menge destillierten Wassers gebracht. Hinzufügen von Giemsa-Lösung, je 1 Tropfen auf 1 ccm Wasser. Vorsichtiges Mischen und Ausbreiten des Schnitts. Nach 1 Stunde übertragen in frisch hergestellte Farblösung. Färbedauer 5—24 Stunden. Bei genügender Färbung zeigen die Schnitte einen tiefdunkelrot-violettblauen Farbenton. Dann kurze Differenzierung in konzentrierter Kalialaunlösung und schließlich in destilliertem Wasser. Übertragen auf den Objektträger und einschließen in Glyzeringelatine oder (nach Lufttrocknen und Aufhellung mit Xylol) in Zedernöl oder neutralem Kanadabalsam. Alaundifferenzierung kann wegbleiben, wenn man die Schnitte nach der Färbung 5—10 Minuten in destilliertem Wasser auswäscht, dann auf dem Objektträger antrocknet und gleich in Balsam einbettet. Beim Antrocknen reißen die Schnitte häufig. — Schmorl sah die in Schnitten gefärbten Treponemen zuerst nach Zerreibung eines gefärbten Schnittes zwischen 2 Objektträgern in großen Mengen gut gefärbt, während sie vorher in dem Schnitte nicht zu erkennen, also wohl gefärbt, dagegen verdeckt waren durch andere intensiv gefärbte Gewebsbestandteile. Durch den genannten Aufhellungsprozeß gelang es aber schließlich, Spirochäten in 2 Fällen von Organschnitten deutlich sichtbar zu machen.

Die bisher genannten Schnittfärbungen haben sich nicht eingebürgert, da wir mit den Versilberungsmethoden bessere und sicherere Resultate erhalten.

Methode von Volpino und Bertarelli (1905).

Volpino, Bertarelli und Bovero fanden zuerst im Jahre 1905 in der Silberimprägnierung nach einer Modifikation der van Ermengem'schen Geißeldarstellung eine Methode, die Treponemen in Schnitten gut darzustellen: Härtung der Gewebsstücke in Alkohol. Sehr dünne Schnitte (höchstens 5 μ) werden 24—48 Stunden in eine 0,2—0,5 prozentige Arg. nitricum-Lösung gelegt, alsdann ausgewaschen und in ein Bad der van Ermengem'schen Mischung von Gerb- und Gallussäure + Natriumazetat (s. Bd. I S. 33) gebracht. Sobald die Schnitte, etwa nach ¼ Stunde, einen gelblichen Farbenton angenommen haben, kommen sie wieder so lange in das Silberbad, bis sie bräunlich gefärbt sind. Abspülen in destilliertem Wasser; entwässern in absolutem Alkohol und einbetten in Kanadabalsam. Die Treponemen erscheinen deutlich schwarz

in dunkelgelben Gewebe. Anstatt auf die Schnitte kann man das Silbernitrat auch auf die kleinen Organstücke einwirken lassen.

Modifikation der VOLPINO-BERTARELLI-Methode (1906).

1. Härten sehr dünner Gewebsstückchen in 96prozentigem Alkohol.

2. 4 Tage in eine Lösung von Arg. nitr. 1,5 g, Aqu. dest. 50 ccm, 96prozentigem Alkohol 50 ccm + 4—5 Tropfen reiner Essigsäure. Flüssigkeit erneuern, sobald Niederschläge.

3. Aqu. dest. — Waschung.

4. Reduktion nach VAN ERMENGEM: 24 Stunden bei Zimmertemperatur (Tannin 3 g, Gallussäure 5 g, essigs. Natron 10,0 g; Aqu. dest. 350,0 g.

5. Sorgfältiges Waschen in Aqu. dest. Alkohol, Chloroform, Paraffin. Dünne Schnitte.

VOLPINO betonte in einer kurzen Mitteilung (1907), daß er die photographische Methode der Spirochätendarstellung zuerst ausgedacht. (Mitteilung in der Turiner Kgl. Med. Akad. 14. Juli 1905.) Die Methode müsse also nach ihm benannt werden, oder höchstens „VOLPINO-LEVADITI-Methode" heißen.

LEVADITI-Methode (1905).

Die von LEVADITI und seinen Mitarbeitern ausgearbeitete Silberimprägnierungsmethode ist eine Modifikation der RAMON Y CAJAL'schen Neurofibrillenfärbung; die Vorschrift ist bereits ausführlich in Band I, S. 32 angegeben.

LEVADITI-MANOUÉLIAN-Pyridinmethode (1906).

Die ursprüngliche LEVADITI-Methode wurde von LEVADITI und MANOUÉLIAN noch modifiziert (neuere sog. Pyridinmethode) (Technik siehe auch Heft 1 S. 32). Bei dieser Methode sollen deutlichere Bilder entstehen. BEITZKE, BUSCHKE u. FISCHER und VERSÉ geben aber an, daß sie mit dieser Pyridinmethode weniger sichere Resultate (mehr Niederschläge) erzielt hätten.

BEITZKE sowie MÜHLENS hatten nach der alten LEVADITI-Methode sehr gute Resultate, wenn sie 6 Tage versilberten und 2 Tage reduzierten, alle Prozeduren im Dunkeln.

Modifikation der LEVADITI-Methode (nach HOFFMANN-BEER 1906).

1. Fixierung in 10prozentiger Formalinlösung, 24 Stunden oder länger.

2. Sofortige Übertragung 1—2 mm dicker Scheiben in 96prozentigen Alkohol über Nacht.

3. Überführen in dest. Wasser, einmal wechseln, bis zum Untersinken.

4. Die an feinen weißen Zwirnfäden aufgehängten Stücke kommen dann in eine jedesmal frisch zu bereitende Mischung von 90 ccm einer 1,5prozentigen Silbernitratlösung und 10 ccm reinsten Pyridins und verbleiben darin (in dunkler Flasche mit Glasstopfen) 3 Stunden bei Zimmertemperatur; dann weitere 3—5 Stunden im Thermostaten bei 45—50°.

5. Dann werden die Stückchen reduziert in einer jedesmal frisch zu bereitenden Mischung: 90 ccm einer 4prozentigen Pyrogallollösung werden mit 10 ccm reinen Azetons gemischt. Zu 85 ccm dieser Mischung werden 15 ccm Pyridin gegeben; und in dieser Lösung bleiben die Stückchen über Nacht.

6. Schnelle Einbettung in Paraffin.

Eventuell Nachfärben mit polychromem Methylenblau.

Versilberung nach PETRESCO (1905).

PETRESCO gab folgende Vereinfachung der Silbermethode an: Härten kleinster Gewebsstückchen in Alcoh. absol. 48 Stunden lang. Dann übertragen in Silberlösungen von steigender Konzentration (:0,25-, 0,65- und 1prozentig), 2 Tage vor Licht geschützt. Dann Alkohol, Xylol, Paraffin. Dünne Schnitte. Die Schnitte dürfen nur während der Untersuchung am Licht bleiben.

Methode von Ravaut und Ponselle (1908).

Schnitte werden auf sauberen Objektträgern durch Osmiumdämpfe oder Mischung von Osmium und Kalium-Bichromat oder einfach durch Methylalkohol fixiert und dann 2 Stunden lang in 2prozentiger wässeriger Larginlösung bei 55° C imprägniert. Dann einige Minuten 5prozentige Pyrogallollösung. Destilliertes Wasser. Dann noch einmal derselbe Prozeß.

Versilberung nach Barannikoff (1909).

Die gehärteten Gewebsstückchen kommen 48—120 Stunden bei 42° in 1—1½-prozentige Arg. nitr.-Lösung. Einstündiges Abspülen in zehnmal gewechseltem Wasser. Dann in 3—4prozentige wässerige Pyrogalluslösung für 15—24 Stunden oder ebensolange in 7½—10prozentige wässerige Lösung von Afga Rodinal-Entwickler unter Zusatz von 3—6% Formalin. Dreistündige Wasserspülung. Dann in Alkohol von steigender Konzentration. Celloidinschnitte. — Derselbe Autor empfiehlt zur Gewinnung mikrophotographischer Negativpräparate, die versilberten Schnitte mit Hämatoxylin nach Heidenhain zu färben: Während das Gewebe dunkel wird, entfärben sich die Spirochäten durch das Eisenalaun vollkommen. B. hat das Versilberungsverfahren insbesondere zum Spirochäten-Nachweis im Blut und Mekonium angewandt.

Modifikation Winkler (1906).

Nach Winkler soll sich mit der käuflichen Argentaminlösung eine Imprägnierung unter Lichtabschluß in wenigen Stunden erzielen lassen.

Nachfärbungen.

Zur besseren Darstellung der Gewebsveränderungen kann man Nachfärbungen vornehmen, z. B. nach Levaditi mit unverdünnter Giemsa-Lösung 3—4 Minuten lang. Nach Abspülen in Wasser Differenzierung in Gemisch von absolutem Alkohol und einigen Tropfen Nelkenöl. Aufhellen in Bergamotteöl, Xylol, Balsam. — Oder: Nachfärben mit konzentrierter Toluidinblaulösung; Differenzierung in Alkohol + einigen Tropfen Ätherglyzerinmischung (nach Unna), Aufhellung in Bergamotteöl, Xylol, Balsam. — Oder: Nachfärbung nach Manouélian: Zunächst Färben der Schnitte mit Methylenblau 1 : 100; Wässern; dann färben mit halbgesättigter Neutralrotlösung. Alcohol. absol., Xylol, Balsam.

Versé (1906) färbte mit 1% Jodgrün nach.

Nach Versé kann man (für Vergleichszwecke) die Spirochäten durch Behandlung mit brauner Jodjodkaliumlösung, Abspülen in Wasser und konzentrierter Natriumthiosulfatlösung wieder entsilbern, um sie dann mit anderen Farbstoffen nachzufärben, um die Gewebsveränderungen zu studieren.

Dohi (1907) entfärbte in Lugol'scher Lösung und Ätzammonlösung (1—5prozentig) oder in 1—5prozentiger Kaliumcyanidlösung.

Hübschmann (1906) lobt die Nachfärbung mit konzentrierter wässeriger Thioninlösung. Simmonds (1906) empfahl Nachfärbung mit Saffranin. Sabrazès und Dupérié (1909) färbten mit Karbolthionin nach, brachten dann bei gleichzeitigem Hindurchziehen der Schnitte durch Alkohol und Xylol einige Pikrinsäurekriställchen auf die Schnitte und ließen sie grün werden. Dann wieder Xylol und Balsam.

Winkler (1906) beschrieb Nachfärbung mit Kristallviolett und Nachbehandlung mit Anilinxylol.

Die meisten Autoren haben die Erfahrung gemacht, daß von allen Schnittmethoden sich am besten zur Pallidadarstellung die Levaditi-Methode, und nicht zum mindesten gerade die ältere eignet.

Organstücke, die längere Zeit, selbst jahrelang in Formalinlösung (nach Schneider selbst 30 Jahre lang in Spiritus) gelegen haben, lassen sich noch gut imprägnieren,

D. Morphologie und Biologie.

I. Lebenduntersuchung.

Wir können die Schilderung der Treponemen nicht besser beginnen, als mit SCHAUDINN's eigenen Worten. Bei der ersten Beschreibung nach Beobachtungen an der lebenden Pallida heißt es u. a. in der SCHAUDINN-HOFFMANN'schen Publikation vom 10. April 1905: „Bei vergleichenden Untersuchungen (scil. der Spirochäten in syphilitischen Fällen) konnte man zwei Formenreihen herausfinden: die eine war dadurch charakterisiert, daß die Spirochäten im Leben etwas stärker lichtbrechend waren, sowie etwas derbere Gestalt und meist weite flache Windungen zu besitzen schienen . . . ; sie wurden bei rein syphilitischen Produkten bisher nicht gefunden, aber stets bei spitzen Kondylomen (5 Fälle), nachgewiesen. Die zweite Formengruppe umfaßt Spirochäten, die im Leben äußerst zart und schwach lichtbrechend, aber meist mit steilen engen Windungen versehen sind.“ Und weiter: „Die Bewegungen im Leben sind die für die Gattung Spirochäte gegenüber Spirillum charakteristischen drei Arten: Rotation um die Längsachse, Vor- und Rückwärtsgleiten und Beugebewegungen des ganzen Körpers. Die Andeutung einer undulierenden Membran ist zuweilen wahrzunehmen, von Geißeln hingegen nichts, die Pole enden spitz.“

In der zweiten SCHAUDINN-HOFFMANN'schen Veröffentlichung wird die Pallida sehr prägnant charakterisiert: „Die bisher ausschließlich in den syphilitischen Krankheitprodukten gefundene *Spirochaete pallida* stellt ein äußerst zartes, im Leben sehr schwach lichtbrechendes, lebhaft bewegliches und daher schwer wahrnehmbares, spiralig gewundenes, lang fadenförmiges, an den Enden zugespitztes Gebilde dar. Die Länge schwankt zwischen 4 und 14 μ; die Breite ist fast unmeßbar dünn, höchstens bis zu $\frac{1}{4}$ μ bei den dicksten Individuen. Die Zahl der Windungen wechselt zwischen 6 bis 14 (später bis 26 angegeben). Charakteristisch für diese Art gegenüber den anscheinend nur auf der Oberfläche der Genitalien und in den oberflächlichen Gewebsschichten bei Genitalläsionen lebenden Spirochäten ist die Art der Windungen. Sie sind bei der *Spirochaete pallida* nicht nur stets zahlreicher, sondern auch sehr eng und steil, korkzieherartig, während sie bei der *Spirochaete refringens* flach, weit, wellenartig erscheinen. Außer der Differenz im Lichtbrechungsvermögen und in der allgemeinen Konfiguration fällt die *Spirochaete pallida* neben allen bisher bekannten Spirochäten durch ihre außerordentlich geringe Färbbarkeit auf“ usw.

Später fügte SCHAUDINN der klassischen Charakteristik noch einige Merkmale hinzu. So sagte er in seinem Vortrage in der Berl. med. Ges. (17. Mai 1905) nach Schilderung der Bewegungsart der Pallida folgendes: „Auch ohne Lokomotion sieht man zuweilen undulierende Bewegungen über das ganze Gebilde laufen, als Ausdruck des Spiels der undulierenden Membran. Hierzu gesellen sich biegende, schlängelnde und peitschende Bewegungen des ganzen Körpers, der demnach nicht wie bei den Spirillen eine starre Längsachse besitzt.“ — Weiterhin wird noch auf die Konstanz der typischen Windungen hingewiesen. So erklärt später SCHAUDINN: „Das eigentümlich starre, man könnte sagen gedrechselte Aussehen der *Spirochaete pallida* beruht darauf, daß die Spirale bei ihr präformiert ist und nur gelegentlich bei Schädigungen aufgegeben wird, während umgekehrt die übrigen Formen die enge Spirale nur gelegentlich bei lebhafter Rotation bilden, um bei Rückkehr zur Ruhe sich zu strecken.“ In seiner letzten Arbeit wies SCHAUDINN noch einmal eingehend (siehe später bei Differentialdiagnose) auf die Unterschiede der Pallida gegenüber anderen Spirochäten hin: der Körper sei im

Querschnitt kreisrund, zylindrisch. Vor allen Dingen sei für die Pallida charakteristisch das Vorkommen einer „langen zarten Geißel“ an jedem Ende, manchmal 2 an einem Ende, die SCHAUDINN zuerst im gefärbten Präparat, dann aber auch „fast noch leichter“ am lebenden Objekt erkannte. Begeißelte Spirochäten von engspiraligem Typus der *„Spirochaete pallida“* fand SCHAUDINN nur bei syphilitischen Produkten. Später wurden „Geißelanhänge“ jedoch auch bei anderen Spirochäten nachgewiesen (siehe später).

Bei den von SCHAUDINN als **„Geißeln“** bezeichneten Gebilden handelt es sich, entgegen der Ansicht von HERXHEIMER und LOESER (1905) sowie BORREL u. a., offenbar nicht um Gebilde, die Bakteriengeißeln entsprechen. SCHAUDINN schrieb: „Der Periplast scheint mir ringsum gleichmäßig entwickelt, sich an beiden Enden verjüngend, in die Geißeln auszulaufen, die etwa die Länge von 4—6 Windungen des eigentlichen Spirochätenkörpers besitzen.“ Auch KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI (1905) sowie HARTMANN und MÜHLENS (1906) faßten die von ihnen als „filament terminal“ bzw. „geißelartige Fortsätze“ bezeichneten Gebilde (von H. und M. auch bei *Spirochaeta dentium* nachgewiesen) als „die zu feinen Fäden ausgezogenen Enden des Spirochätenleibes, speziell des Periplasts“ (H. und M.) auf. Hier sei auch gleich bemerkt, daß ähnlich so u. a. auch die entsprechenden „Periplastanhänge“ oder „Periplastfortsätze“ bei Hühnerspirochäten von v. PROWAZEK (1906) und bei der *Spirochaeta Vincenti, Spirochaeta buccalis* und Balanitisspirochäte von HOFFMANN und von v. PROWAZEK (1906) gedeutet wurden. HOFFMANN nennt sie „Endfäden“. LEVADITI sowie A. KRAUS hatten bald auch derartige Gebilde bei Spirochäten vom Refringenstyp nachgewiesen; LÖWY (1906) ferner bei Spirochäten aus ulzeriertem Karzinom. Die „Begeißelung“ ist also — entgegen der Ansicht von SCHAUDINN — kein für die Pallida spezifisches Charakteristikum. (S. auch p. 392).

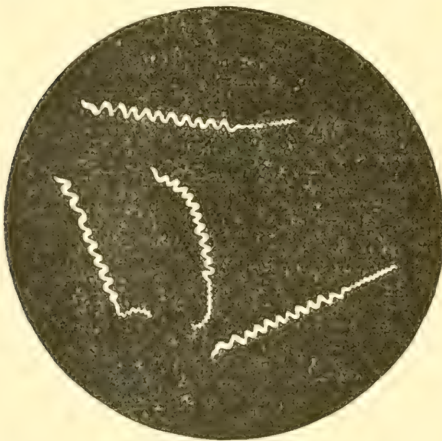


Fig. 8. Pallidae mit „cil terminal“ nach LEVADITI (1911).

Vor kurzem beschrieb und bildete LEVADITI (1911) Endgeißeln („cil terminal du *Treponema pallidum*“) an je einem Ende ab, die er im Ultramikroskop an der lebenden Pallida erkannte (s. Fig. 8). Die Geißel besitze 8—10 gleichmäßige und sehr enge Windungen; sie stelle gewissermaßen eine Reproduktion der Pallida in kleinerem Maßstabe dar. Ihre aktiven Bewegungen seien unabhängig von denen der Treponemen selbst. Manchmal waren sie winklig zur Pallida gestellt. Das Untersuchungsmaterial stammte von einem Kaninchenhoden - Passagevirus (Virus Truffi). Exzidierte Syphilomstückchen waren in SCHERESCHEWSKY-Nährboden gebracht bei 37°. Am folgenden Tage wurden aus der Umgebung des eingebrachten Stückchens Treponemen entnommen und in Kaninchenserum untersucht. MÜHLENS (nicht publiziert) sah ähnliche feine, gleichartig gewundene Anhänge in frischem Material von Kaninchen-Primäraffekt. — NOGUCHI (1911) bildet Kulturtreponemen mit enggewundenen Geißeln, auch an beiden Enden, selbst an einem Ende 2 ab.

Besonders sorgfältige Beobachtungen an der lebenden Pallida haben u. a. in der ersten Zeit auch KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI (1905 und 1908) gemacht, von denen hier noch einige kurz angeführt seien. Außer geringen Kontraktionen mit folgender

Erschlaffung erwähnen sie auch kriechende Bewegungen („reptation"). Ferner schildern sie, wie die Bewegung manchmal so lebhaft sein kann, daß sie den Eindruck einer Vibration des ganzen Treponemakörpers macht, während bei langsamen Bewegungen eine Welle über den Körper hinzulaufen scheint. Gerade nach lebhaften Bewegungen steht die Pallida mitunter plötzlich stille; beim Wiederbeginn laufen dann die Wellen in umgekehrter Richtung (auch schon von Schaudinn beschrieben). Kr. und S. sind der Ansicht, daß die Bewegung bei der Pallida nach denselben Prinzipien vor sich geht wie bei den anderen Spirochäten, so daß man vermuten müsse, daß die Pallida auch einen ähnlichen Bewegungsapparat besitzt, „la cause qui provoque ses mouvements rapides n'est pas probablement la membrane oundulante, mais la structure même du corps de la spirochète." Perrin (1906) hat bei der Spirochaeta balbianii eine feste Membran (Periplast) und ferner kontraktile Fibrillen (Myophane) festgestellt, die nur in gewissen Lebensstadien zu sehen seien. Bei der Pallida lassen sich diese Formationen nach Krzysztalowicz und Siedlecki (1908) wegen der außerordentlichen Feinheit des Objekts nicht darstellen; ihr Vorhandensein wird aber vermutet.

Die ursprüngliche Ansicht Schaudinn's, daß der Körper der Pallida starr sei und daß diese typische „gedrechselte" Rigidität nur „gelegentlich bei Schädigungen" verloren gehe, kann in dieser Form nicht aufrecht erhalten werden. Schon in der ersten Zeit der Pallidaforschung haben einige Untersucher (Hoffmann, v. Prowazek, Krzysztalowicz und Siedlecki) eine gewisse Elastizität festgestellt. Krzysztalowicz und Siedlecki konnten u. a. selbst im lebenden Präparat Treponemen beobachten, die vom Schaudinn'schen Grundtyp abwichen. So sahen sie die lebenden Pallidae nicht selten mitten in lebhafter Bewegung heller, dicker und dabei flacher und unregelmäßiger werden. Dann kehrten sie oft wieder zur ursprünglichen Form zurück oder machten seitliche Beugebewegungen (schon von Schaudinn beschrieben). Kr. und S. vermuten, daß die Pallida in verschiedenen Lebensperioden verschiedene Formen haben kann und „daß das Krankheitsbild der Syphilis, namentlich das periodische Auftreten der Veränderungen eben durch diese Entwicklung der Parasiten bedingt ist". Die beschriebenen und auch die Beobachtungen in gefärbten Präparaten (Einrollungen, Ring- sowie mehr oder minder unregelmäßige bzw. gestreckte Formen u. dgl.) sprechen gegen eine absolute Rigidität, die höchstens nur gewissen Stadien zukommt.

Während sich die ersten Beobachtungen an dem lebenden Treponema äußerst schwierig gestalteten, da bei den gewöhnlichen Methoden der Lebenduntersuchungen außer guter Beleuchtungsquelle und vorzüglichem optischem System eine ziemliche Übung dazu gehörte, die feinen Gebilde zu erkennen, erleichterte die Einführung der **Dunkelfeldbeleuchtung** (S. 372) die Beobachtung ganz wesentlich. Insbesondere ist auch im Dunkelfeld eine gute Unterscheidung des *Treponema pallidum* von den meisten anderen Spirochäten möglich: das Treponema erscheint rein weiß, andere Arten sind mehr gelblich bis rötlich-gelblich.

Leider hat uns aber auch die Dunkelfeldbeleuchtung noch keinen endgültigen Aufschluß über die genauere feinere Struktur der Pallida gebracht. Die Pallida erscheint auch im Dunkelfeld homogen, gleichmäßig silberhell, und läßt keinen sicheren Unterschied zwischen Periplast, Protoplasma- und Kernbestandteilen oder ev. undulierender Membran u. dgl. erkennen. Zwar glaubten verschiedene Autoren mit dem gewöhnlichen und auch mit dem Ultramikroskop in manchen Exemplaren kleine stärker lichtbrechende hellglänzende Gebilde an den Spirochätenenden oder in bzw. am Körper beobachtet zu haben. Diese Gebilde wurden z. T. als Kern, teils auch als Dauersporen oder dgl. gedeutet. Andere stellen diese Bedeutung in Frage. (S. auch p. 409.)

Buschke sah gefärbt die Körnchen als „solide dem Spirochätenkörper angehörende Gebilde" bei mehreren Produkten desselben Falles von Lues congenita.

Hier sei nur noch angeführt, daß auch die **Vitalfärbung** keinen Aufschluß über die Natur der beschriebenen Gebilde geben konnte. (Über Vitalfärbungen im allgemeinen siehe näheres in der 1. Lieferung dieses Handbuches S. 33ff. (Giemsa)). Mandelbaum (1907), der eine vitale Färbung mit Loeffler-Methylenblau + 1 Öse $^1/_{10}$ Normalnatronlauge anwandte, hielt die zuerst von Herxheimer (1905) gefärbten Körner für Täuschung, für Umschlagstellen der Spirochäten von vorne oben nach hinten unten bzw. umgekehrt. Er sah in seinen vital gefärbten Präparaten die Pallida am Rande des Tropfens als zartes feines blaßblaugefärbtes Gebilde mit charakteristisch steilen Windungen in typischer „Spiralform" in lebhaftester Bewegung, darunter auch die typischen Knickbewegungen. Die Refringensspirochäten erschienen viel gröber gefärbt, so daß eine Verwechslung nicht möglich war.

Eine andere, anscheinend auch für die **Schnelldiagnose** sehr brauchbare Methode hat Meirowsky (1910) angegeben: Stellt man sich aus Methylviolett (Grübler) und einigen Tropfen phys. Kochsalzlösung einen Farbstoffbrei her und reibt diesen in die zu untersuchende syphilitische Affektion (Primäraffekt, nässende Papel u. dgl.) ein, so enthält das nach einigen Minuten entnommene Reizserum die *Spirochaeta pallida* und eventuell auch *Spirochaeta refringens* mehr oder weniger intensiv violett gefärbt. Die Intensität der Färbung hängt ab von der Konzentration der Farbstofflösung und Intensität der Einreibung und ist erkennbar an dem Grad der Färbung der lipoiden Hülle der roten Blutkörperchen, die bei gelungener Färbung tiefblauviolett sein muß. Die Pallida erscheint dann hellviolett, die Refringens intensiv tiefblauviolett gefärbt. M. konnte die Spirochäten 12 Tage lang lebend in vital gefärbtem Zustande beobachten. Über ähnliche gute Resultate (100% positive) berichtet auch Zweig (1910). M. gab noch an, daß er bei manchen Spirochäten ein leicht ovales blauviolett gefärbtes Körperchen seitlich an der Mitte nachweisen konnte. „Anscheinend handelt es sich um den Kern der Spirochäte, jedoch wage ich es nicht, dies mit Sicherheit zu behaupten." — Ähnliche, allerdings schwächere Färberesultate hatte Meirowsky, wenn er statt Methylviolett Kristallviolett nahm. Es genügt, wenn man einen Kristall in die ulzerierte Papel oder Primäraffekt einreibt. Das Serum löst den Farbstoff.

Die Art der von Schaudinn genügend charakterisierten **Bewegung** ist namentlich im Dunkelfeld sehr gut zu beobachten, insbesondere dann, wenn Treponemen mit dem einen Ende an irgendein festes Gebilde fixiert sind, z. B. an Blutkörperchen (— in deren Nähe sie sich gerne aufhalten —) oder dgl. Dann sind häufig namentlich die Rotationsbewegungen, mit denen sich die Parasiten in die Zelle einzubohren scheinen, sehr heftig. Beer (1906) macht noch besonders darauf aufmerksam, daß die Bewegung bei Pallidae aus dem peripheren Blut, ebenso bei solchen aus der Tiefe von Primäraffekten oder aus der Tierkornea lebhafter als gewöhnlich war; er sah „lebhaft schnellende seitliche Ausschläge beider Enden und ruckweises Krümmen des sonst weniger flexiblen Körpers." Landsteiner und Mucha (1906) gaben an, daß die Treponemen, wenn sie bei 37° in luftdicht abgeschlossenen Präparaten aufbewahrt wurden, anfangs sehr viel lebhaftere Bewegungen machten als bei Zimmertemperatur, daß sie dann aber bald abstarben. — Häufig ist die eigentliche Vorwärtsbewegung keine sehr große. Außer den seitlichen Knickbewegungen sieht man mitunter Aufrollungen mit folgendem Wiederaufschnellen. Besonders lebhafte Ortsbewegungen beobachtet man nicht selten bei Kaninchenhoden-Treponemen und bei Pallidae aus dem Blute.

Über die Dauer der aktiven Beweglichkeit, d. h. also über die **Lebensdauer der Pallida** im abgeschlossenen Deckglaspräparat sind die Angaben verschieden. So sah Eitner (1907) die Pallida im mit Paraffin umrandeten, mit Kochsalz verdünnten Reizserum nie länger als 5—6 Stunden beweglich. Während die meisten anderen Beobachter die Dauer der aktiven Beweglichkeit in vitro auf einige Stunden bis wenige Tage angeben, stehen Beer und Hoffmann (1906) mit ihren viel längeren Beobach-

tungen allein da. Sie sahen unter dem Deckglas, mit Vaseline und Wachskerze luftdicht abgeschlossen, bei Zimmertemperatur (20—27° C), die Pallida 33, ja 50 Tage lang beweglich. Beer sagt, daß „das künstliche Licht und die begleitende nicht unbeträchtliche Erwärmung des Präparats bei den stundenlangen, fast täglichen Untersuchungen die Spirochäten nicht zu schädigen schien". Dabei wurden keine wesentlichen Formveränderungen und kein Übergang in ein anderes Entwicklungsstadium beobachtet. Beer's Präparate waren in Ascitesflüssigkeit, oder physiol. Kochsalzlösung oder unverdünntem Reizserum angelegt. Diese Beobachtung muß, wenn es sich bis zum Schluß um eine aktive Bewegung gehandelt hat — als allergrößte Seltenheit gelten. — Schade sah in mit Serum gefüllten Kapillarröhrchen die Treponemen 10—20 Tage lang beweglich. — E. Hoffmann hat festgestellt, daß sich mit Treponemen, die luftdicht abgeschlossen — wie in den Präparaten Beer's — 48 Stunden zwischen Deckglas und Objektträger aufbewahrt gewesen waren, Affen nicht mehr infizieren ließen. Hertmanni (1909) hat die Frage der Lebensfähigkeit des *Tr. pallidum* ausführlich besprochen und dabei die früheren Beobachtungsresultate zusammengestellt. Unter Hinweis auf diese Arbeit will ich nur einige z. T. neuere Beobachtungen mitteilen. Gegen Eintrocknung sind die Treponemen sehr empfindlich. U. a. hat Neisser (siehe Arbeit 1911) tierexperimentell festgestellt, daß das Virus abgetötet und zur Impfung unbrauchbar wurde, sobald ein Eintrocknen der Flüssigkeit oder der Gewebe stattgefunden hatte, ferner durch 3stündigen Aufenthalt bei 10° C oder durch 20stündigen Aufenthalt im Eisschrank. Selbst kurzes Einfrieren im Frigokälteapparat wird vertragen (Blumenthal). Nach Metschnikoff ist das Syphilisvirus gegen Kälteeinwirkung sehr empfindlich; ebenso gegen Erwärmungen über 45—50° (Metschnikoff, Landsteiner und Mucha, Hertmanni u. a.). Weiterhin töten Röntgenstrahlen, Einwirkung von Uviollampen, ferner Heißluftbehandlung (Roscher) die Treponemen schnell ab. — Die **Infektionsmöglichkeit** blieb nach Neisser erhalten: in größeren Stücken von Primäraffekten oder breiten Kondylomen 6—10 Stunden, in Organgemischen von Affen 3 Stunden lang. Flexner hat bewegliche Treponemen noch nach 24 Stunden in einem exzidierten Primäraffekt gesehen und Truffi 52 Stunden nach dem Tode bei einem Menschen mit Primäraffekt. Salomon berichtete im Jahre 1904 noch vor Entdeckung des Syphiliserregers über folgenden Versuch: 2 Affen waren an je einer Augenbraue mit frischem menschlichem Virus, an der anderen mit 6 Stunden lang außerhalb des Organismus gehaltenem Virus infiziert worden. Nur an der ersteren Stelle entstand ein Primäraffekt. Gastou beobachtete lebende Spirochäten in syphilitischen Kinderlebern bis zu 10 Tagen, Neisser bei einem totgeborenen Fötus bis 50 Stunden nach der Geburt. Eitner hingegen gab an, daß er in inneren Organen luetischer Frühgeburten, ferner bei einem ausgetragenen und lebend geborenen Kinde einer luetischen Mutter, das 3 Tage nach der Geburt gestorben war, bei Untersuchung 24 Stunden post mortem immer nur nicht bewegliche Parasiten fand. Immerhin steht durch die mit Organsaft von kongenitaler Lues gelungenen Affeninfektionen fest, daß das Syphilisvirus noch einige — wenn auch nur kurze — Zeit in der Leiche für Affen infektionstüchtig bleibt. Und daraus ergibt sich die Infektionsgefahr auch für den Menschen. Auch bezüglich der indirekten Infektionsmöglichkeit durch leblose Gegenstände ist die Frage der Lebensfähigkeit des *Treponema pallidum* an solchen von Interesse. Scheuer (1910) hat im Anschluß an die Infektion einer Frau durch einen 1½ Stunden vorher vom syphilitischen Stubenmädchen benutzten Badeschwamm Untersuchungen über die Ansteckungsfähigkeit von Badeschwämmen angestellt. Dabei wurde mittels Dunkelfelduntersuchung beobachtet, daß die Pallida in feuchten Schwämmen sich mindestens über 2 Stunden lang lebensfähig, d. h. beweglich halten kann, während sie an trockenen Schwämmen schnell eintrocknet und dadurch abge-

tötet wird. Damit ist allerdings noch nicht die Dauer der Infektionsfähigkeit bewiesen. Ähnliche Versuche hatten u. a. auch schon Gastou und Commandon (1908) gemacht. Sie wollten feststellen, wie lange Treponemen am Rande von Trinkgläsern lebend blieben. Zu dem Zwecke ließen sie Kranke mit Plaques oder Schankern an den Lippen (mit reichlich Spirochäten) aus einem Glase trinken. Nach ½ Stunde wurde die Berührungsstelle der Lippen abgespült und es fanden sich in der Spülflüssigkeit noch bewegliche Spirochäten. Aus den beiden letztgenannten sowie auch aus anderen Beobachtungen (s. auch Zusammenstellung von Pinkus Med. Klinik 1909 Nr. 18) ergibt sich, daß eine indirekte Infektion durch leblose Gegenstände kurze Zeit nach der Kontamination (vor der Eintrocknung) möglich ist. Neisser sieht alle beweglichen Spirochäten für virulent an. — Ob auch ev. durch Wiederanfeuchtung von angetrockneten Treponemen eine Wiederbelebung möglich ist, steht noch nicht fest.

Über Verhalten gegen chemische Stoffe und Desinfizientien s. S. 363 und 448.

W. H. Hoffmann (1910) hatte wiederholt Impfversuche bei Affen und Kaninchen gemacht mit Stückchen von menschlichen und Kaninchen-Schankern, die in erstarrtem Pferdeserum 1—7 Tage bei 37° im Brutschrank aufbewahrt waren, ohne daß eine positive Impfung je gelungen wäre, wohingegen die unmittelbaren Übertragungen größtenteils erfolgreich waren. Demgegenüber wurden später jedoch mit mehrere Tage alten Misch- und auch Reinkulturen positive Treponema-Übertragungen berichtet (s. S. 417 ff.). Daraus ergibt sich, daß die Pallida in vitro, in Kultur wenigstens, mehrere Tage lebensfähig und selbst virulent bleiben kann. In diesem Zusammenhange sei auch noch folgende interessante Beobachtung von Mühlens (1910) bei seinen Kulturversuchen erwähnt.

„Eine Anzahl Serumagarröhrchen war mit Spirochäten aus Reinkulturen in tiefem Stich beimpft worden. Während zehntägigen Verweilens im Brutschrank wuchsen in den meisten keine Spirochätenkolonien. Ich machte nun nach einigen Tagen, während die Röhrchen in Zimmertemperatur gestanden hatten, in jedes der Röhrchen drei tiefe Stiche mit dem Zusatz III. Und nun sah ich zu meiner größten Überraschung nach einigen Tagen zwischen den Bakteriumstichen noch je einen vierten Stich von üppigen Spirochätenkolonieen entstehen. Offenbar handelte es sich um den alten, vor 14 Tagen gemachten Impfstich, und man muß annehmen, daß durch das Wachstum des Zusatz III in dem Nährboden erst die günstigen Entwicklungsbedingungen für die Spirochäten geschaffen wurden und so die Spirochäten nachträglich zur Entwicklung kamen. Es folgt hieraus weiterhin, daß die Spirochäten sich in dem Nährboden, ohne sich zunächst durch Wachstum makroskopisch bemerkbar zu machen, längere Zeit selbst bei Zimmertemperatur entwicklungsfähig (vielleicht in einer Dauerform?) halten können. Die Untersuchungen bedürfen in dieser Hinsicht noch der Ergänzung.“

II. Untersuchung im gefärbten Präparat.

In der ersten Publikation von Schaudinn und Hoffmann ist mitgeteilt, daß die Färbung der Pallida „bisher“ nur mit der auf S. 376 angegebenen sehr kräftigen Modifikation der **Giemsa'schen Azur-Eosin-Färbung** gelang, im Gegensatz zu den Spirochäten des anderen „dunkelfärbbaren Typus“ (Refringens), die auch mit anderen Färbemethoden (Gentianaviolett, Karbolfuchsin, Romanowsky-Färbung usw.) leicht dargestellt werden konnten. Giemsa wies darauf hin, daß es auch mit der Giemsa-Methode (1904) möglich war, das Treponema zu färben (s. S. 376). Auch solche Präparate eigneten sich zum Studium der morphologischen Details.

Gleich in den ersten Arbeiten ist als ein Hauptcharakteristikum der Pallida die

schwere **Färbbarkeit** hervorgehoben und darauf hingewiesen, daß auch in den gefärbten Präparaten die Erkennung der Pallida ein geübtes Auge, ein gutes Mikroskop und viel Geduld erfordert. Die Erkennung ist namentlich für den Anfänger schwierig; man muß sich unter fortwährendem langsamem Spielenlassen der Mikrometerschraube erst gewissermaßen in die Präparate hineinsehen. Selbst Schaudinn sagt: „Das Suchen dieser zarten Organismen ist so anstrengend, daß man am Tage nicht länger als 4—5 Stunden mikroskopieren kann." Nun sind ja zwar 4—5 Stunden heutzutage für viele Mikroskopiker die normale bzw. mehr als normale Mikroskopierzeit; für einen Schaudinn aber, der Tag und Nacht fast ununterbrochen am Mikroskop sitzend beobachten konnte, bedeuten sie eine Kleinigkeit. Namentlich in der ersten Zeit der Pallida-Forschung gaben viele Untersucher an, daß sie beim Beginn der Untersuchungen nur einzelne oder überhaupt keine Parasiten fanden, daß aber mit zunehmender Übung auch die positiven Befunde sich mehrten.

Die Pallida färbt sich nach Giemsa sehr charakteristisch zartrosarot im Gegensatz zu fast allen anderen Spirochäten, die einen mehr bläulichen bis blau-violetten Farbenton zeigen (außer *Spirochaeta dentium* und einigen ähnlichen Spirochäten s. S. 445). In gut fixierten Präparaten (Osmium, Alkohol, Formalin) erkennt man die Pallida an ihren typisch-regelmäßigen tiefen Windungen, die den blaßroten Körper ziemlich gleichmäßig „gedrechselt", „korkzieherartig" erscheinen lassen. An den Enden laufen sie spitz zu. Eine Pallida gleicht nun nicht jeder anderen aufs Haar: Außer Längenunterschieden bemerkt man auch nicht selten solche in der Zahl und Größe der Windungen. Andere Exemplare können in gefärbten Präparaten einen teilweise unregelmäßigen Verlauf mit flacheren oder ungleichmäßigen Windungen oder manchmal gar streckenweise eine fast geradlinige Gestalt zeigen, so daß dann von typischer Form keine Rede mehr sein kann (formes rectilignes, nach Fouquet namentlich in Spätperiode. S. auch p. 393). Die Körperachse verläuft nicht immer gerade, sondern kann die verschiedensten Krümmungen machen. Namentlich bei älteren Affektionen und in Organausstrichen findet man häufig neben typischen solche **atypischen Formen.** Zweifellos können bei ihrer Entstehung auch die Fixierung, Art und Schnelligkeit des Antrocknens u. dgl. eine Rolle spielen. Anscheinend bleibt der Normaltyp um so besser erhalten, je schneller die Eintrocknung erfolgt. Die Zugehörigkeit der atypischen Formen zum Treponema ergibt sich in der Regel aus der Färbbarkeit und ihrem alleinigen Vorhandensein neben der typischen Pallidaform in rein syphilitischen geschlossenen, nicht sekundär infizierten Affektionen.

Fast stets erscheint die Pallida in den Trockenpräparaten von homogener Färbung, die keinen Strukturunterschied von Plasma- und Chromatinsubstanzen erkennen läßt. Mac Weeney ist der Ansicht, daß das Treponema ausschließlich aus Chromatin besteht. Besonders nach den Untersuchungen von Krzysztalowicz und Siedlecki, v. Prowazek, Hartmann u. a. kann aber eine Differenzierung in Periplast- und Innensubstanz angenommen werden.

Von verschiedenen Autoren, so gleich in der ersten Zeit von Wechselmann und Loewenthal, Herxheimer, Goldhorn u. a. sind dunkler bläulich-violett gefärbte Ein- oder Anlagerungen als Kerne (vgl. auch S. 387) oder auch als Entwicklungsstadien (siehe S. 409) gedeutet worden. Die **Kernfrage** kann aber noch nicht als im Sinne dieser Autoren entschieden gelten. Zweifellos handelte es sich zum großen Teil bei derartigen Gebilden, namentlich den angelagerten Körnchen, um Kunstprodukte, Niederschläge oder dgl., wie auch z. B. Herxheimer später selbst von einem Teil seiner mit Gentianaviolett gefärbten Körnchen zugegeben hat. — v. Prowazek nimmt mit anderen Zoologen eine zentrale diffuse Verteilung der Kernsubstanz in Form von Chromidien an. Mit dieser Auffassung dürfte wohl das Richtige getroffen sein. (S. auch S. 393.)

Die von Schaudinn für die Pallida angegebenen **Größenverhältnisse** sind bereits

erwähnt. Die durchschnittliche Windungszahl beträgt 8—12. Hartmann und Mühlens (1906) fanden — zum Teil in Übereinstimmung mit Schaudinn u. a. — auf Grund von Messungen an einer großen Zahl von gefärbten Treponemen im Vergleich mit *Spirochaeta dentium* folgende Werte:

Spirochaeta pallida	*Spirochaeta dentium*
Länge: Durchschnittlich 10—20 μ.	4—10 μ, ausnahmsweise mehr.
Dicke: Meistens dünner als *Spirochaeta dentium*.	Unmeßbar dünn bis $^2/_3$ μ in maximo bei Loeffler-Färbung.
Windungslänge: Etwa 1,2 μ.	Im Mittel 1,2 μ, mitunter auch kleiner.
Tiefe der Windungen: $^2/_3$ μ in minimo, in der Regel 1—1,5 μ.	$^1/_3$—$^2/_3$ μ in maximo
Verhältnis der Länge zur Tiefe der Windungen durchschnittlich: $\frac{1}{1}$—$\frac{1}{1,5}$.	$\frac{1}{0,5}$.
Winkel der beiden Windungsschenkel: Weniger als 90°.	Etwa 90°.
Form der Winkel: Am Ende stark abgerundet, fast halbkreisförmig.	Fast eckig.
Geißelartige Fortsätze: Dicke wie bei der *Spirochaeta dentium*.	Sehr fein.

Messungen von E. Hoffmann (1906) an osmiumfixierten und nach Giemsa gefärbten Präparaten ergaben ähnliche Zahlen: durchschnittliche Windungslänge 1—1,2 μ, Windungstiefe 1—1,5 μ, Dicke etwa $^1/_4$ μ. Krzysztalowicz und Siedlecki fanden bei ihren Messungen, daß selbst bei anscheinend ganz regelmäßigen typischen Formen die Windungen nicht immer alle dieselbe Konfiguration hatten.

Nach Hoffmann schwankt die Windungszahl zwischen 8 und 26; kürzere und längere Exemplare sind seltener. Immerhin sind auch über 30 Windungen zeigende Parasiten (Riesenformen, Lipschütz) und auch solche mit 2—4 Windungen beobachtet. Nach den Enden zu nimmt die Höhe der Windungen meist allmählich ab, so daß die Treponemen im ganzen dünner werden. Hoffmann bezeichnet „die große Länge im Vergleich zur Dünne des Fadens" als eins der wesentlichsten Charakteristika der Pallida.

Die an die sich verjüngenden Enden sich anschließenden **geißelartigen Fortsätze** (s. auch S. 386) wurden gefärbt von Schaudinn, weiterhin auch von Krzysztalowicz und Siedlecki, Babes und Panea, Herxheimer und Loeser sowie anderen

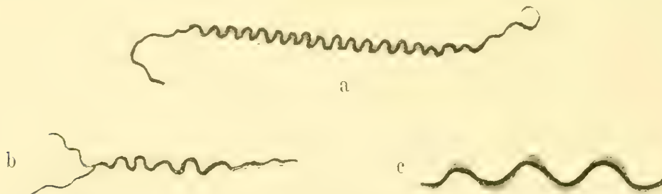


Fig. 9. *Spir. pallida* und *refringens* (schematische Zeichnung nach Schaudinn). a *Spir. pallida* mit „Geißeln". b dito. c *Spir. refringens* mit undul. Membran.

beschrieben. Babes und Panea bezeichneten die an einem Ende der Pallida gesehenen feinen Fortsätze als „Geißeln ähnlich". Herxheimer und Loeser sahen die „unmeßbar dünnen Gebilde" an beiden Enden, mitunter zwei an einem Pole, u. a. auch in mit gesättigter Gentianaviolett-Lösung gefärbten Präparaten. Schaudinn hatte die „Geißeln" in mit Loeffler-Beize behandelten Ausstrichen deutlich färben können; später konnte

er sie auch nach der GIEMSA-Methode darstellen. Auch anderen ist die Geißeldarstellung mit intensiver GIEMSA-Färbung, besonders in osmierten Präparaten und auch mit anderen Färbemethoden gelungen.

In SCHAUDINN's Mikrophotogrammen (Tafel IX Fig. 6) zeigen die „Geißeln" nicht die typischen Windungen der Pallida, sondern die „Geißel"-windungen sind breiter und flacher.

KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI geben bei ihren eingehenden morphologischen Studien eine ganze Reihe von Zeichnungen der „filament terminal". Einige der Figuren, insbesondere solche mit schönen regelmäßig gewundenen Endgeißeln, wie sie auch von anderen beschrieben wurden, sind auf Tafel VII Fig. 8—10 mit gütiger Erlaubnis der Verfasser wiedergegeben.

Auf Grund ihrer Studien, insbesondere an gefärbten Präparaten, unterschieden KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI zwei Haupttypen des *Treponema pallidum:* 1. Die sog. „forme hélicoide", die Schraubenform, d. i. die typische regelmäßig gewundene, ziemlich starre Form, deren Maße fast genau mit denen von HARTMANN und MÜHLENS übereinstimmten. 2. Die „forme ramollie" d. i. die geknitterte, sehr unregelmäßig gestaltete, weniger starre Form, von anderer „structure intime", die namentlich bei vorgerückter Infektion häufiger gefunden wurde. — Ähnlich so wie auch andere stellten KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI fest, daß in frischen Primäraffekten, solange die Infiltration zunimmt, fast nur normale Treponemen vorhanden sind, während bei der Rückbildung der Infiltration die Parasitenzahl abnimmt und die Form atypisch wird.

Analog verhält es sich auch in länger dauernden Prozessen. Man sieht die atypischen Formen aber gar nicht selten auch in frischen Sklerosen und frischen Organausstrichen, wie ich mich kürzlich an Material von Sklerosen und Leber wieder überzeugen konnte (Tafel VIII u. IX). HARTMANN und MÜHLENS hatten ähnliche „geknitterte" Formen auch bei der *Sp. dentium,* selbst aus der Kultur beschrieben und für degenerierte Formen gehalten.

Außer den schon genannten beschrieben KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI auch noch eine ganze Reihe von anderen, von der typischen Korkzieherform im gefärbten Präparat abweichenden Spirochäten, die aus den „formes ramollies" hervorgehen sollen, u. a. solche mit aufgerollten Enden, oder in der Mitte aufgerollte, oder gänzliche Aufrollungen, weiterhin kleine dünne und kurze dicke Formen (Geschlechtsformen), ferner dunklere körnchenartige Einlagerungen u. a. m. Jeder, der sich mit dem morphologischen Pallidastudium beschäftigt hat, kennt diese z. T. auch schon von vielen anderen Untersuchern beschriebenen ganz oder teilweise aufgerollten Formen (Ring-, Biskuit-, Stern-, Schleifenformen u. dgl.) und weiß, daß die Treponemen in den gefärbten Präparaten keineswegs immer geradlinig verlaufen, wie das bei der Lebenduntersuchung fast die Regel ist. Auf die Deutung aller dieser Formen kommen wir noch zurück (S. 409 ff.).

In Bezug auf den Bau der Treponemen äußern KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI folgendes: In der größeren Arbeit vom Jahre 1908 werden die früher für Kerne gehaltenen, meist in der Einzahl auftretenden hellen ungefärbten Lücken im sonst gleichmäßig gefärbten Treponemakörper für Ansammlungen von Achromatin erklärt („achromatine séparée de la substance nucléaire"), oft umgeben von kleinen körnigen Chromatinbestandteilen. Der Rest des Kernes, insbesondere sein Chromatin, finde sich im ganzen Körper des Treponema verteilt. Bei den „formes hélicoides" sei der Körper von einem mehr starren Periplast umgeben als bei den „formes ramollies". Die Kernsubstanz der geknitterten Formen sei unregelmäßiger verteilt. Deshalb wäre der Körper weniger starr und regelmäßig und fiele die Färbbarkeit häufig ungleichmäßig aus. KR. und S. halten den Querschnitt des Treponema für etwas flach. Eine undulierende Membran konnten sie am Periplast auch gefärbt nicht nachweisen. — Alle diese ge-

nauen morphologischen Details sind mit starken Vergrößerungen an gut gefärbten und differenzierten Präparaten festgestellt (vgl. S. 380).

Nach Gastou soll die Pallida ein merkwürdiges, nur für sie charakteristisches Verhalten zeigen, wenn man das Untersuchungsmaterial mit 50prozentiger Albuminlösung verdünnt: Bei 10 Minuten langem Erhitzen auf 53° verliere sie dann ihre Färbbarkeit mit Marineblau; bei anderen Spirochäten sei das nicht der Fall.

Die Treponemen sind gramnegativ (Mulzer, Weeney, Lipschütz u. a.). — Kurzes Eintauchen der nach Giemsa gefärbten Präparate in absoluten Alkohol entfärbt nicht sogleich. Auch vertragen die Präparate auf kurze Zeit Eintauchen in eine Petrischale mit destilliertem Wasser + 3 Tropfen Essigsäure (Frosch).

In den nach der **Burri'schen Tuschemethode** hergestellten Präparaten (S. 381) sind die Windungen der weißen Treponemen auf dunklem Untergrund meist gut erhalten.

Nicht selten findet man in Ausstrichen von Treponema-reichem Material eine Anzahl von Exemplaren zopf- oder knäuelartig ineinander verflochten, mitunter gar in dichten großen Haufen (s. Tafel VIII Fig. 7, Ausstrich aus Kaninchenprimäraffekt) zusammengeballt.

III. Untersuchungen im Schnittpräparat.

Für die Darstellung der Pallida im Gewebe eignet sich am besten eine der Versilberungsmethoden, von denen die Levaditi'sche am beliebtesten ist (Technik s. S. 383). Die Treponemen erscheinen bei gelungener Versilberung als sehr deutliche schwarze Spiralen, an Dicke ähnlich denen in Loeffler-Präparaten, also wesentlich dicker als in den nach Giemsa gefärbten Ausstrichen.

Stenczel stellte die in Gewebsschnitten nach Levaditi-Manouélian gefundenen, auch schon früher von anderen beschriebenen drei Treponementypen zusammen: 1. gerade Formen, mit scharfen und steilen Windungen und zugespitzten Enden; 2. kürzere, viel zartere Exemplare, von mehr braunschwarzem Farbenton, bezüglich der Streckung, der Zahl, Enge und Steilheit der Windungen variabel und Büschel, Schleifen, Schlingen und Geflechte bildend; 3. Formen mit tiefschwarzen knopfartigen Auftreibungen an einem der beiden Enden. — Überall da, wo sich die Spirochäten unbehindert im Raum entfalten könnten, herrsche die typische erste Form vor. Den auffallenden Formenunterschied zwischen den zarten Spirochäten in den Giemsa-Präparaten und Levaditi-Schnitten erklärt Stenczel dadurch, daß bei der Giemsa-Färbung nur der Zentralkörper des Spirochätenleibes, bei der Silberbehandlung aber auch die plasmatische Hülle gefärbt wird. — Man kann allgemein sagen, daß sich in Schnitten fast alle Formenbilder wiederfinden, die auch in Ausstrichen zur Beobachtung kommen, selbst die als Längsteilung gedeuteten Y-Formen. Weniger deutlich oder ungleichmäßig schwarz gefärbte Treponemen sowie spiralig gewundene Ketten von Körnchen werden als wahrscheinlich degenerierte oder absterbende Exemplare angesehen.

Über die Beziehungen des *Treponema pallidum* zu den histologischen Veränderungen haben wir erst seit Einführung der Versilberungsmethode Aufschluß gewonnen. Es liegt eine ganze Anzahl vortrefflicher ausführlicher Arbeiten darüber vor, insbesondere von Levaditi und seinen Mitarbeitern, Buschke und Fischer, Ehrmann, Entz, Gierke, Sakurane, Beitzke u. a. (S. auch p. 368 ff.)

Hier seien nur die wichtigsten Untersuchungsergebnisse hervorgehoben.

1. Beziehung des *Treponema pallidum* zur erworbenen Syphilis.

Primäraffekt. Die grundlegenden Studien von Burnet und Vincent, Levaditi und Manouélian, Queyrat und Levaditi, Wolters, Bertarelli und Volpino, Hoffmann, Ehrmann, Blaschko u. a. haben gezeigt, daß sich zunächst im Bereich der ober-

flächlichen Ulzeration selbst keine oder nur wenige Treponemen finden, während daselbst die *Spirochaeta refringens* neben den Bakterien der Sekundärinfektion zahlreicher anzutreffen ist. Nach LEVADITI ist diese Seltenheit des Pallidabefundes in dem geschwürigen Teil vielleicht auf antagonistische Wirkung der Begleitorganismen zurückzuführen, zum Teil wohl auch auf das reichliche Vorhandensein von polynukleären Leukozyten, die phagozytisch wirken (LEVADITI, EHRMANN, GIERKE u. a.). Rings um das schankröse Geschwür bestehen hingegen intime Beziehungen der Gewebsläsionen zum *Treponema pallidum*: Die Parasiten liegen daselbst im Bereiche der Infiltration in den Epithelspalten der Epidermis, insbesondere zahlreich in den gequollenen Bindegewebsbündeln zwischen den Fibrillen, und zwar dem Verlauf der Fibrillen entsprechend, ferner in der Wand der Lymphgefäße und Venen, seltener auch der Arterien. Sie bilden oft ein dichtes Filzwerk um die verdickten Lymph- und Blutkapillaren. Während sie ferner im Lumen der Venen nicht allzuhäufig angetroffen werden, finden sie sich in den stark erweiterten Lymphbahnen in großen Mengen und oft haufenweise. Diese Befunde weisen darauf hin — und darin sind sich auch die meisten Histologen einig —, daß sich die Treponemen zunächst in den Lymphspalten vermehren und auch auf den Lymphbahnen in die Tiefe vordringen, in kollagenes Bindegewebe und in Blutgefäßwände einwandern. Auch beginnt — nach E. HOFFMANN, der 3 Wochen vor Auftreten der Roseola schon einen positiven Blut-Impferfolg sah — der Übertritt einzelner Exemplare in die Blutbahn schon in ganz jungen Sklerosen (auch von LEVADITI beobachtet). So kommt dann eine präventive Exzision der beginnenden Primäraffekte meist zu spät. EHRMANN (von HOFFMANN bestätigt) stellte fest, daß bei Sklerosen des Präputiums und der Penishaut mitunter schon eine Wanderung der Treponemen in Nervenstämme stattfinde, wo sie dann nicht nur im Perineurium, sondern auch zwischen den Nervenfasern im Nervenbündel selbst liegen. Dadurch würde die Ausdehnung der Infektion im Nervensystem zentralwärts nahegelegt. LEVADITI hält das allerdings auf Grund der EHRMANN'schen Befunde noch nicht für bewiesen. — Nach BUSCHKE kommen die Treponemen mitunter auch im normalen Epithelüberzug von Primäraffekten vor. — Vielen Untersuchern ist der Nachweis der Pallida in Primäraffekt-Schnitten mißglückt. Wie BLASCHKO zeigte, liegt das häufig daran, daß mit den Schnitten keine Spirochätenherde getroffen sind. Denn gerade in den Primäraffekten liegen die Parasiten nicht selten herdweise in Lymphgefäßen u. dgl. und zwar in Gefäßen, die ihren Ursprung aus dem „Hauptspirochätenherd" nehmen.

EHRMANN hat bezüglich der Infektion folgende Ansicht: Die Spirochäten gelangen entweder direkt oder durch die Interspinalräume der MALPIGHI'schen Schicht in die Cutis, woselbst nach längerer Zeit eine Neubildung von Kapillaren sowie eine Leukozytenauswanderung stattfindet. Die Spirochäten nehmen ihren Weg vorwiegend in die Lymphgefäße, zum geringeren Teil in die kleineren Venen. Während bei der Initialsklerose die Gefäßveränderungen hauptsächlich durch von außen in die Lymphgefäße und Venen eindringende Spirochäten veranlaßt würden, seien die Veränderungen im Sekundärexanthem auf den umgekehrten Weg der Spirochäten zu beziehen. „Die Spirochäten befinden sich hier in der Blutbahn und haben sich so weit vermehrt, daß die Mehrzahl der Arterienverzweigungen in der Haut davon etwas erhalten haben, wenn das Exanthem ein generalisiertes ist." Für die auch schon früher von VEILLON und GIRARD sowie LEVADITI vertretene Anschauung, daß die an der Stelle der Primärläsion durch die lymphatischen Kanäle in den Organismus eingedrungenen Treponemen auf dem Blutwege sich ausbreiten, sprechen auch die klinischen und experimentellen Beobachtungen: Gleichmäßiges Auftreten der Sekundärerscheinungen, Treponemanachweis im peripheren Blut, gelungene Affenimpfung mit Blut usw. Dazu kommt noch folgendes: Während die Treponemen in den Lymphspalten und Lymphgefäßen der Initialsklerose zum Teil reichlich vorhanden sind, macht ihr Nachweis in dem

weiteren Verlauf der Lymphgefäße Schwierigkeiten. Nach EHRMANN findet man sie z. B. im dorsalen Lymphstrang nur an einzelnen Stellen im peri- und endolymphangitischen gewucherten Bindegewebe, dann meist von unregelmäßiger, degenerierter Gestalt. E. HOFFMANN sah auch Treponemen in einem großen Lymphgefäß des Präputiums unterhalb einer Sklerose, im Lumen und in der Wand, die meisten von charakteristischer Gestalt.

Sekundärerscheinungen.

In den **Lymphdrüsen** ist die Verteilung der Treponemen ungleichmäßig, herdförmig, häufig in nur geringer Zahl. Nach HOFFMANN und BEER finden sie sich mitunter aber auch zahlreich in den Wandungen der kleinen Blut- und Lymphgefäße und in den Trabekeln, besonders in der Rinde, unweit des Randsinus.

Die Beziehungen der Pallida zu den **Roseolen** wurden zuerst von VEILLON und Girard (1906) beschrieben, deren Untersuchungsresultate nachher von anderen, u. a. auch von SCHAUDINN selbst (Nachlaß-Veröffentlichung) an einem Präparate LEVADITI's bestätigt wurden. Die Treponemen finden sich hier nur in dem Lumen der erweiterten Kapillarschlingen der Hautpapillen sowie im Gewebe ihrer nächsten Umgebung, ferner auch in einigen Gefäßen unter den Papillen. Dagegen sind die tieferen Schichten frei. Die Eruption der Roseola wird, wie u. a. auch SCHAUDINN in einem hinterlassenen Bericht vom Januar 1906 ausführt, verursacht durch eine Embolie der Gefäßenden (sei also keine Toxinwirkung): Die Treponemen werden mit dem Blut in die feinsten Kapillaren der Haut transportiert, fixieren sich in den Kapillarschlingen der Papillen und rufen hier durch den Reiz eine Kongestion hervor. Die vermehrte Blutzufuhr erweitert die Gefäße. Die Parasiten dringen dann durch die lädierte Gefäßwand in das Bindegewebe der Umgebung und erregen so die perivaskuläre Rundzelleninfiltration.

Von ähnlichem Standpunkte wird auch die Entstehung der **sekundären Papel** durch lokale Treponemen-Vermehrung und -Herdbildung erklärt. In den sekundären Papeln ist die Treponemalagerung eine ähnliche wie in den Primärläsionen, aber auch in der Tiefe der infiltrierten Haut (zuerst von LEVADITI und seinen Mitarbeitern nachgewiesen). Dabei sind in der Tiefe auch deutliche Beziehungen zwischen den Mikroorganismen und der perivaskulären Infiltration festzustellen. Bisweilen beobachtet man Parasitenmassen in wahren interzellulären Nestern (LEVADITI). SCHAUDINN fand bei sekundären Papeln auch Treponemen in großen einkernigen Blutkörperchen im Innern von Blutgefäßen; so sah er „eine mit Spirochäten beladene derartige Zelle, wie sie gerade im Begriffe war, aus einer Blutkapillare auszuwandern". Daraus schien es SCHAUDINN wahrscheinlich, daß diese beweglichen Wanderzellen mit an der Verschleppung der Spirochäten in das perivaskuläre Bindegewebe beteiligt sind. Diese Ansicht wird auch von anderen geteilt; insbesondere hat auch GIERKE mit Spirochäten beladene Leukozyten beschrieben.

E. HOFFMANN machte darauf aufmerksam, daß das Pigment in der Epidermis im Bereiche der vorgedrungenen Spirochäten fehlte oder zum mindesten stark vermindert war, so daß die Entstehung des **Leukoderma** syphiliticum auf eine Wirkung der *Spirochaeta pallida* zurückzuführen sei. LEVADITI neigt demgegenüber mehr zu der Ansicht, daß das Leukoderma eine Folge der durch den syphilitischen Prozeß veranlaßten Gefäßveränderungen sei. LIPSCHÜTZ kam zu folgender Schlußfolgerung bezüglich der Beziehung der *Spirochaeta pallida* zum Hautpigment syphilitischer Effloreszenzen: Unter dem Einfluß der *Spirochaeta pallida* entstehen, namentlich in Effloreszenzen auf der Höhe der Entwicklung, regelmäßig Pigmentalterationen. Diese bestehen in einer „initialen" geringgradigen Pigmenthypertrophie, die regelmäßig von einer partiellen oder totalen Pigmentatrophie gefolgt ist. Der ausgesprochene Antagonismus zwischen *Spirochaeta pallida* und Hautpigment stellt einen spezifisch biologischen Vorgang dar,

der auf unmittelbarer Wirkung des Syphilisvirus, bzw. eines von diesem gebildeten Giftes und nicht etwa auf dem entzündlichen Prozeß als solchem oder auf Mischinfektion und dadurch bedingter Eiterung beruht.

Sehr zahlreich finden sich — entsprechend der großen Infektiosität — die Treponemen in den nässenden **breiten Kondylomen** der Genital- und Analgegend, wie zuerst Bertarelli und Volpino, dann E. Hoffmann u. a. zeigten. Die Verteilung ist auch hier nicht immer gleichmäßig. Manchmal durchwandern sie in großen Mengen „fischzugartig" von den Papillenköpfen aus das von Zellen und Lücken durchsetzte Rete Malpighi, „als ob sie in Massen der Oberfläche zustreben" (Hoffmann). Dieses Vorgangs scheint sich nach Hoffmann die Natur zu bedienen, um neue Infektionen, also Übertragungen zu vermitteln. Im Rete liegen die Parasiten in den Interspinalräumen, in den Papillen und den oberen Cutisschichten, vor allem in den Gefäßwänden, deren Umgebung und im Bindegewebe, auch mitunter im Lumen der Blutgefäße. Die neben der Pallida nur in den oberen Epithelschichten häufig anzutreffenden gröberen Refringensspirochäten sind auch in Levaditi-Präparaten deutlich von der Pallida zu unterscheiden.

Bei den genannten wichtigsten und auch anderen Hautaffektionen, auf die hier nicht einzeln eingegangen werden kann, lassen sich also gleichmäßig die Beziehungen des *Treponema pallidum* zu den perivaskulären Infiltrationen sowohl als auch ihr vorwiegendes, oft herdweises Vorkommen in den Bindegewebsspalten, in den Lymph- und den Blutgefäßen, ferner in den interzellulären Saftspalten, so zwischen den Epithelien der drüsigen Organe, nachweisen. — Sobald bei Sekundärerscheinungen die pathologisch-anatomischen Veränderungen einen Gewebszerfall herbeiführen, beginnt das Verschwinden der Treponemen.

Tertiärerscheinungen.

Mit Gewebszerfall wird es von manchen auch erklärt, daß in den tertiären Erscheinungen, bei Syphilis maligna und bei der Arteriitis syphilitica des Frühstadiums die Treponemen in den zerfallenen Partien nicht oder nur in geringer Zahl, und zwar in den weniger alterierten Grenzzonen zu finden sind. Immerhin ist jedoch auch der Nachweis bei Lues III in Schnitten, namentlich in den Randpartien von Gummen, serpiginösen Geschwüren usw. wiederholt gelungen. So sahen zuerst Doutrelepont und Grouven (1906) nach langem Suchen einzelne Spirochäten um ein Blutgefäß bei einem ulzerösen Gumma. Ferner fanden Hoffmann und Feldmann ähnlich wie Doutrelepont und Grouven sowie Blaschko einige Spirochäten in der Randzone von tertiären serpiginösen Syphiliden. Shaw, der die Treponemen in kongenitalen Gummiknoten (wie auch einige andere) nachwies, machte darauf aufmerksam, daß man die Serienschnitte tangential legen muß. Nach Neisser ist die Eigenart der tertiären Prozesse mit größter Wahrscheinlichkeit weniger durch Virulenz- oder andere Veränderungen der Treponemen als durch eine eigenartige Umstimmung der Gewebe zu erklären, die dann auf die Parasiten anders reagieren, „Ausdruck einer gewissen Idiosynkrasie gegen sonst normale Spirochäten und ihre Toxine". Jadassohn ist der Ansicht, daß bei Lues III die Proportion zwischen Erregern und Terrain so geändert ist, daß die ersteren nicht mehr üppig vegetieren können und daß auf ihre spärliche Vegetation hin wie bei anderen Krankheiten auch chronische und deletär wirkende Gewebsalterationen eintreten.

Buschke und Fischer hatten zur Erklärung der tertiären und malignen Erscheinungen (ohne Spirochätenbefund) die Vermutung ausgesprochen, daß der Syphiliserreger vielleicht verschiedene Entwicklungsstadien habe, nach denen sich die Natur der Erscheinungen richte. Wenngleich auch die entwicklungsgeschichtlichen Studien der Spirochäten gewisse Entwicklungsformen nicht unwahrscheinlich erscheinen lassen,

so kann deren Existenz und Art doch noch nicht als sicher bewiesen gelten, noch weniger ein Zusammenhang von Entwicklungsformen mit gewissen Krankheitsstadien. Direkt gegen die Annahme von BUSCHKE und FISCHER sprechen die nicht selten gelungenen Treponemabefunde auch in den tertiären Produkten sowie die Tatsache, daß FINGER und LANDSTEINER bei tertiär Syphilitischen durch Impfung mit frischem Material von primärer und sekundärer Lues dieselben tertiären Erscheinungen erhielten. Das spricht doch wesentlich, wie u. a. auch LEVADITI und ROCHÉ hervorheben, im Sinne einer „Umstimmung" der Gewebe und dadurch bedingter verschiedener Reaktionsfähigkeit der Gewebe gegenüber dem gleichen Treponema.

Während in den Pusteln bei **Lues maligna** zahlreiche Treponemen vorkommen können, findet man sie in den späteren ulzerösen Herden nur spärlich, so daß man annimmt, daß diese bösartigen Luesformen weniger durch direkte Treponema-Einwirkung als durch eine geringe Widerstandsfähigkeit des Organismus, vielleicht auch durch Sekundärinfektion zustande kommen.

2. Treponema in Schnitten innerer Organe bei erworbener Lues.

Im Gegensatz zu den später zu besprechenden Befunden bei kongenitaler Syphilis sind Treponemabefunde in den inneren Organen Erwachsener selten berichtet. Erwähnt seien zunächst SCHAUDINN's Befunde von einzelnen typischen Treponemen in der Randpartie eines Lebergummas. Die positiven Ausstrichbefunde aus Milzpunktionssaft und Knochenmark sind bereits angeführt.

E. HOFFMANN sowie JACQUET und SÉZARY berichteten über Pallidabefunde in der **Nebenniere** je eines im Sekundärstadium verstorbenen Syphilitikers. HOFFMANN fand in der verdickten Kapsel wenige, ziemlich viele aber in der Rindenschicht, teils im Bindegewebe, teils in der Zona fascicularis, in anderen Organen keine Pallidae.

Ausführlich beschrieben sind die auch von SCHAUDINN bestätigten, zuerst von REUTER (1906), später von SCHMORL u. a. erhobenen Befunde bei der **Heller'schen Aortitis.** Die Treponemen lagen im REUTER'schen Falle in der Aortenintima allenthalben teils sporadisch, teils herdartig, sowohl im Bindegewebe zwischen den Fibrillen als auch in Lymphspalten, besonders an Stellen, an denen regressive Veränderungen fehlten, also im frischen neugebildeten Bindegewebe.

BENDA sowie STRASMANN (1906) wiesen Treponemen bei einer **Arteriitis cerebralis** nach, und zwar nur bei den in Bildung begriffenen Syphilomen (BENDA).

SÉZARY untersuchte die syphilitisch veränderten Arteriae fossae Sylvii von einer 2 Monate nach der Syphilisinfektion an Schlaganfall verstorbenen Person. In kleinen, in ihrem Innern zum Teil verkästen Gummen der äußeren Gefäßschicht ließen sich mit LEVADITI-Färbung Treponemen, die meisten von typischer Form nachweisen, in manchen Gesichtsfeldern bis zu 10. Die meisten lagen frei in den Lymphräumen oder im verkästen Gewebe, einige auch intrazellulär.

BEITZKE (1911) hat über einen Fall von Treponemabefund bei knötchenförmiger syphilitischer Leptomeningitis berichtet.

Die Ursache der großen Seltenheit von Treponemabefunden in den Organen bei erworbener Syphilis (— manche Untersucher, z. B. LEVADITI, hatten bei in voller Infektion gestorbenen Syphilitikern völlig negative Resultate —) bedarf noch der Aufklärung. LEVADITI glaubt, daß dabei u. a. die größere Widerstandsfähigkeit der Gewebe bei Erwachsenen eine Rolle spielen könne.

Bei den parasyphilitischen Affektionen (Tabes und Paralyse) sind auch in Schnitten Treponemen nicht gefunden worden (u. a. MARIE und LEVADITI, MARINESCO, QUEYRAT und FEUILLÉE[1])).

[1]) Zit. bei Levaditi-Roché p. 304.

3. Beziehungen des *Treponema pallidum* zur angeborenen Lues.

Die wichtigsten der zahlreichen Arbeiten hierüber sind schon angeführt. Auch ist bereits angedeutet, daß die Schnittuntersuchungen die ungeheure Verbreitung des Syphiliserregers im kongenital infizierten Organismus aufgedeckt haben, nicht nur bei mazerierten Früchten, sondern auch bei Kindern, die gelebt hatten. Viele Untersucher geben an, daß sich die Parasitenmenge im allgemeinen nach dem Grade der Erkrankung richtet; andere heben aber mit Recht das häufig bestehende Mißverhältnis zwischen Parasitenzahl und Organveränderungen hervor. Während mitunter sämtliche Organe gewissermaßen septikämisch von Treponemen überschwemmt sind (so besonders bei mazerierten Föten), lassen sich in anderen Fällen nur in einzelnen Körperteilen Parasiten nachweisen. Im allgemeinen kann man feststellen, daß die Treponemen bei den akut tödlich endenden Fällen mehr diffus im Organismus verteilt sind, während sie in den langsamer verlaufenden Erkrankungen sich hauptsächlich in den am meisten affizierten Organen finden. Zu den in der Regel am reichlichsten infizierten Körperteilen gehören: Leber, Nebennieren, Lunge (Pneumonia alba) und Haut (Pemphigus); nächstdem kommen etwa: Herz, Milz, Magen- und Darmschleimhaut, Pankreas, Niere und Knochen, Lymphdrüsen usw.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Treponemen auch im kongenital syphilitischen Organismus vorwiegend in den Wandungen der Blut- und Lymphgefäße, im interstitiellen Bindegewebe sowie zwischen den Epithelzellen sich aufhalten. Die Anhäufung ist mitunter herdweise eine so massige, insbesondere um die Gefäße, daß man in Levaditi-Präparaten schon mit schwachen Vergrößerungen die Parasitenknäuel als schwarzgefärbtes dichtes Netzwerk erkennt. Schaudinn bezeichnet solche aus tausenden von miteinander verflochtenen Treponemen bestehenden riesigen Anhäufungen als einen der verblüffendsten Anblicke, die ihm je in seinen parasitologischen Studien vorgekommen seien. Nicht selten aber, namentlich in vorgeschrittenen Fällen, sind die Treponemen über den ganzen Körper diffus verteilt, selbst in scheinbar normalen Teilen ohne jede histologische Veränderung, z. B. in Haut: Eindringen in Haarfollikel zwischen den Schweiß- und Talgdrüsenepithelien und bis in die oberste Schicht der Epidermis. Ebenso wie bei primärer und sekundärer Lues findet man auch Treponemen im Lumen von Blutgefäßen. Ferner dringen sie auch, worauf besonders Levaditi (von anderen bestätigt) hinwies, in die Parenchymzellen der drüsigen Organe, namentlich in die Leber- und Nierenepithelien sowie in die Zellen der Nierenkapsel ein; sie können daselbst lange in typischer Form erhalten bleiben oder auch körnigen Zerfall zeigen. In körnigem Zerfall begriffene Treponemen findet man auch sonst, namentlich in vorgeschrittenen Prozessen sowie in Phagozyten. Auch blassere und ungleichmäßige Färbung von Treponemen ist als Zerfalls- bzw. Absterbeerscheinung zu deuten.

In der **Leber** kann man nicht selten schon bei Betrachtung mit Trockensystem und selbst schwacher Vergrößerung ein namentlich um die Gefäße gelagertes, den bindegewebigen Entzündungsherden entsprechendes dichtes schwarzes Netzwerk von Treponemen feststellen. Das vorwiegende und reichliche Befallensein der Leber ist pathogenetisch leicht zu erklären: Die Treponemen gelangen mit dem Nabelvenenblut zuerst in die Leber, woselbst sie sich dann zunächst vermehren können und häufig derart wuchern, daß schließlich die Leber ganz von Treponemen durchsetzt ist, so daß man von einer Überschwemmung des ganzen Organs reden kann. In späteren Stadien mit bedeutenden Leberveränderungen findet man sie weniger zahlreich in typischer Form. Sie sind alsdann, wie besonders auch Schaudinn hervorgehoben hat, größtenteils im Kampfe des Gewebes gegen die Eindringlinge zugrunde gegangen: „Die degenerierten spärlich übrig gebliebenen Leberzellen sind vollgepfropft mit den Über-

resten von Treponemen. Die im Kampfe übrig gebliebenen Parasiten haben sich auf die Blut- und Lymphgefäße und in das Epithel der Zellengänge zurückgezogen."

Entsprechend wie in der Leber sind die Treponemen auch in den **Lungen** bei der Pneumonia alba gelagert, bei der man auch sehr häufig mit schwacher Vergrößerung schon die schwarzen Treponemahaufen in LEVADITI-Präparaten erkennen kann. Außer an den bekannten Prädilektionsstellen finden sich die Treponemen auch noch im Lumen der Alveolen; ferner sieht man die kleinen Bronchien häufig von dichten Parasitenhaufen umgeben bzw. ausgefüllt. SCHAUDINN hat die Treponemen auch in einer typischen hereditären Gummigeschwulst der Lunge gefunden: Das Innere der Geschwulst enthielt nur zerfallende Zellen und polynukleäre Leukozyten, der entzündete Wall dagegen Spirochäten in enormen Mengen. „In jeder Bindegewebszelle saßen ein bis zahlreiche Spirochäten, so daß an vielen Stellen der Eindruck entstand, als sei das Geflecht des Bindegewebes durch ein Spirochäten-Flechtwerk ersetzt." — Auch BABES und MIRONESCU haben sehr zahlreiche Treponemen in Frühsyphilomen der Lunge und Leber von bald nach der Geburt verstorbenen Kindern nachgewiesen, und zwar auf die Knoten beschränkt; in der Lunge vor allem im Lumen der Alveolargänge, in der Leber besonders innerhalb der zum Teil riesenzellenartig veränderten Leberzellen. Auch noch eine Reihe anderer Mitteilungen über Treponemanachweis in gummösen Produkten kongenitaler Lues liegt vor.

In **Darm** und **Magen** ist die Muskularis ein beliebter Spirochätensitz (VERSÉ u. a.); sie liegen daselbst zahlreich zwischen den Fasern, meist parallel der Faserrichtung. Jedoch findet man sie auch in größeren Mengen in der Darmmukosa, ferner können sie das Darmepithel durchdringen und sind dann im Darminhalt und Mekonium nachzuweisen (SIMMONDS u. a.). In den Darmgeschwüren sitzen die Treponemen vorwiegend in den Randpartien (ENTZ, E. FRAENKEL u. a.), der Geschwürsgrund ist frei. Ferner sind sie auch in den LIEBERKÜHN'schen Drüsen gefunden (SIMMONDS, VERSÉ und E. FRAENKEL). E. FRAENKEL sah bei einem Kinde, das fünf Tage gelebt hatte, Treponemen in enormer Menge, aber nur im Bereiche der Krankheitsherde und deren unmittelbarer Umgebung. Sie ließen sich schon bei schwacher Vergrößerung als ziemlich breite, die LIEBERKÜHN'schen Drüsen und die Kapillaren der Submukosa umspinnende schwarze Säume erkennen (LEVADITI-Färbung).

Die **Nebennieren**, insbesondere die Rinde sowie die Bindegewebssepten (auch gesunde, BUSCHKE) zwischen den Cortikalzellen, sind oft außerordentlich reich an Treponemen; diese liegen in den Rindenzellen häufig intrazellulär. Die meisten Untersucher haben in der Marksubstanz nur wenige oder keine Treponemen gefunden, andere, z. B. TRINCHESE dagegen viele. TRINCHESE ist auf Grund der so häufigen Infektionen der Nebennieren (97,5% seiner Fälle) der Ansicht, daß die Nebennieren-Untersuchung allein schon genügt, um die Anwesenheit von Treponemen im kindlichen Organismus nachzuweisen. SCHAUDINN hielt die Nebennieren für ein phagozytäres Organ; er fand sie vollgepfropft mit großen einkernigen Leukozyten, den „Makrophagen" METSCHNIKOFFS, die ihrerseits mit Spirochäten in allen Stadien der Degeneration beladen waren.

In den **Nieren** ist der Zahlenbefund der Treponemen wechselnd. Man findet sie daselbst außer an den bekannten Stellen (— hauptsächlich der Rindenpartie im interstitiellen Gewebe —) auch noch innerhalb der Glomeruli sowie in den Epithelien und im Lumen der Harnkanälchen, besonders reichlich in denen der geraden (SCHAUDINN, LEVADITI u. a.).

Die **Milz** enthält (ebenso wie **Thymus**) selten so große Treponemamengen, wie sie BUSCHKE und FISCHER gleich in ihren ersten Fällen in der Milz sahen, und zwar herdförmig, besonders um die Gefäße herum gelagert. Die meist weniger zahlreichen

Parasiten liegen in der Milz vorwiegend in dem Bindegewebe und in den Gefäßwandungen, aber auch häufig in Leukozyten (Schaudinn).

Levaditi und seine Mitarbeiter erklärten die relative Parasitenarmut der Milz und Lymphdrüsen mit phagozytären Vorgängen in diesen Organen. Buschke und Fischer konnten an Gefäßlängsschnitten der Milz nachweisen, wie die Spirochäten den Zellinterstitien der Intima folgend sich von da in das benachbarte Bindegewebe ausbreiteten. In der Pulpa fanden sich nur wenige Parasiten. Buschke und Fischer sind mit Levaditi der Ansicht, daß diese Anordnung der Parasiten ihr Eindringen auf dem Blutwege beweise.

Der **Herzmuskel** zeigt auch ohne Veränderungen nicht selten Treponemen in ziemlich bedeutender Anzahl in den Gefäßwänden und um die Gefäße und Kapillaren, im proliferierten Bindegewebe und auch in den Muskelfasern selbst (Entz u. a.), entsprechend deren Verlauf gelagert. Buschke und Fischer schließen aus der Verteilung und Lagerung zwischen den einzelnen Muskelfibrillen auf ein aktives Vordringen der Treponemen in den Muskelbündeln.

Im **Pankreas** sind mitunter auch zahlreiche Treponemen gesehen worden. Weniger reichlich findet man sie im Rückenmark, den Nerven, der Cornea, in Thyreoidea und Ösophagus.

Über die **Gehirn**veränderungen bei angeborener Lues gibt insbesondere eine Arbeit von Ranke ausführlichen Aufschluß: Bei den zum Teil schweren Gehirnveränderungen sei der Infektionsweg aus der Lagerung der Spirochäten klar zu erkennen. Diese setzen sich zunächst vornehmlich in den Gefäßwänden, namentlich der Pia, fest. Die in die oberen Schichten der Hirnrinde eindringenden Spirochäten können schwere histologische Veränderungen verursachen.

Im **Knochenmark** bei der spezifischen Osteochondritis fand zuerst Bertarelli die Treponemen, auch im angrenzenden Periost ziemlich zahlreich. Pasini wies sie beim syphilitischen Fötus in Zahnkeimen der Inzisivi nach.

Schneider sah Pallidae im interstitiellen infiltrierten Gewebe zwischen den Epithelien der **Hoden**kanälchen und auch in deren Lumen bei einer Orchitis specifica.

Wolters stellte sie zuerst im **Ovarium** fest sowie auch im Innern der **Ovula** (bestätigt von Hoffmann, Bab u. a.).

Schlimpert teilte mit, daß er die Pallida u. a. auch im Epithel der **Tonsille**, in der Rachen-, Wangen- und Zungenschleimhaut darstellen konnte. Von ihm sowie auch von anderen wird darauf hingewiesen, daß die Pallida sowohl Zylinder- wie Plattenepithel interzellulär durchwandern und in die Se- und Exkrete (Urin, Galle, Bronchial- und Rachensekret, Mekonium) gelangen kann.

Buschke und Fischer fanden Treponemen in relativ großen Mengen in einer Bifurkations**lymphdrüse** der Bronchien und in einer Lymphdrüse in der Nähe der Gallenblase, die sie als „Stichproben" entnommen hatten (ferner auch in anderen Lymphdrüsen). Die Lagerung entsprach vollkommen der in indolenten Lymphdrüsen bei erworbener Lues, „nur daß sie in letzteren mehr herdweise sich finden, während sie hier die ganzen Organe durchsetzen".

Endlich sind die Treponemen bei Lues congenita nicht nur in den verschiedensten **Hautaffektionen** (Pusteln, Papeln u. dgl.) in der Epidermis, in Papillen, Schweißdrüsen und Haarfollikeln gefunden, sondern auch in anscheinend normaler Haut nachgewiesen worden, aber nur bei Syphilitischen.

Auch sonst ist das Vorkommen von Treponemen bei kongenitaler Lues in inneren Organen ohne deutliche pathologisch-anatomische Veränderungen in frühen Infektionsstadien bekannt. Es kann eine ausgesprochene viszerale Lues vorliegen, ohne daß äußere manifeste Symptome nachweisbar sind, und in solchen Fällen kann somit eine unbeachtete Infektionsgefahr bestehen.

4. Beziehungen des *Treponema pallidum* zu Plazenta und Nabelschnur.

Von besonderer Bedeutung sind noch die Befunde in **Plazenta** und **Nabelschnur**, weil daraus Hinweise auf die Art der Übertragung gegeben werden können. Schaudinn berichtete über Plazenta-Schnittuntersuchung: „Während in den kindlichen Teilen des Mutterkuchens die Treponemen um die Gefäße und im Bindegewebe reichlich nachweisbar waren, habe ich bisher im mütterlichen Teil noch kein einziges Exemplar finden können. Die Mutter war nun auch vor der Niederkunft einer energischen Hg-Kur unterzogen worden.“ Fast übereinstimmend hatten die ersten Untersucher seltene und spärliche positive Befunde in den Plazenten. So sahen Wallich und Levaditi nur in einer von 13 syphilitischen Plazenten Parasiten: lokalisiert um die fötalen Zottenkapillaren, in der Schleimhaut der Zotten und der Wand der plazentaren Verzweigungen der Nabelschnurgefäße. Nattan-Larrier und Brindeau fanden die Treponemen im infiltrierten oder nekrotisierten Bindegewebe der Zotten und der Tunica media der Arterien. Auch von den meisten späteren Untersuchern ist berichtet, daß die Treponemen im mütterlichen Teil der Plazenta überhaupt nicht oder in weit geringerer Zahl als im kindlichen gefunden wurden: Hübschmann fand sie im kindlichen und mütterlichen Anteil; Mohn, Graefenberg sowie Pauli wiesen sie nur in den fötalen Zotten nach. In der Wand der Nabelschnurgefäße, namentlich der Venen, sind Treponemen u. a. gefunden von Hübschmann, Bab, Sakurane, Frohwein, Mohn und Graefenberg. Letztere sahen sie namentlich in nächster Nähe des Hautnabels; Mohn nur dann, wenn Erscheinungen beim Fötus bestanden, Graefenberg selbst in völlig normalem Nabelstrang ohne Mazeration; in den Eihäuten fand Mohn keine Parasiten.

Pauli äußerte die Ansicht, daß die pathologisch-anatomischen Veränderungen der Plazenta das Resultat von Toxinen seien, hervorgerufen durch *Spirochaeta pallida* in fötalen Organen und nicht durch direkte Einwirkung der Spirochäten auf die Villi. Die Plazenta sei nicht der Infektionsherd. Die Tatsache, daß die *Spirochaeta pallida* nie im mütterlichen Teil der Plazenta, sondern nur im Stroma der Blutgefäße der fötalen Villi zu finden sei, lasse vermuten, daß die Plazenta der Invasion der Spirochäten größeren Widerstand entgegensetze, was wahrscheinlich dem starken Zuströmen von Antikörpern oder Immunsubstanzen aus dem mütterlichen Blutkreislauf zuzuschreiben sei. — Mohn nimmt aus dem Fehlen der Treponemen in den intervillösen Räumen und in der Dezidua sowie aus den schon genannten Befunden an, daß die Spirochäteninvasion ihren Weg direkt vom Fötus durch die Nabelschnur in die Plazenta genommen habe, daß also der Fötus die direkte Quelle sei und nicht die Mutter.

Baisch glaubte in seinen Präparaten den Durchtritt der Parasiten durch das Epithel der Zotten bis in die intervillösen Räume hinein verfolgen zu können. — In einer größeren sehr sorgfältigen Arbeit hat Trinchese im Jahre 1910 die Frage der Plazentarsyphilis auf Grund von eingehenden Untersuchungen ausführlich besprochen. In allen verdächtigen Fällen wurden Kind und Plazenten auf Treponemen in Schnitten untersucht, im ganzen 100 Plazenten, von jeder Plazenta 200—250 Schnitte von verschiedenen Stellen durchmustert. Dabei ergab sich zwar eine relative Parasitenarmut der Plazenten, so daß sorgfältige Untersuchungen zum Nachweis notwendig waren. Aber „die Befunde von Spirochäten in den Plazenten stimmten ohne Ausnahme mit den Spirochätenbefunden in den Organen überein“. Und weiterhin mit nur zwei Ausnahmen auch der Ausfall der Wassermann'schen Reaktion bei der Mutter mit dem positiven Spirochätenbefund im Kinde. Ähnliche Resultate hatten auch andere (Bauer, Rietschel, Stroscher), zum Teil 100% positive Reaktionen bei den Müttern syphilitischer Kinder.

Zu bemerken ist noch, daß Trinchese die Plazenten besonders sorgfältig ver-

arbeitete: Sie wurden sofort nach der Ausstoßung in folgende Lösung vorsichtig eingelegt: Formalin 36—40% 10,0g; dest. Wasser 90,0g; Natr. chlorat. 0,6 g (letzteres, um die fixierende Lösung möglichst isotonisch mit dem Gewebssaft zu machen und eventuelle Veränderungen durch osmotische Strömungen zu vermeiden). Nach dreitägigem Aufenthalt in der konservierenden Lösung wurden 4—5 mm lange, die ganze Dicke der Plazenta umfassende Scheiben ausgeschnitten, 1 Tag lang in 4% Formalin, 1 Tag in 80% Alkohol. Färbemethode (Levaditi-Modifikation):

1. 24 Stunden lang in dest. Wasser, das mehrmals gewechselt werden muß, bis die Stücke untersinken.

2. In brauner Flasche in eine 1prozentige chemisch reine Silbernitratlösung; 3 Stunden in dunklem Zimmer; dann 5 Tage im Brutschrank bei 40° C.

3. Silbernitrat abgießen; dest. Wasser zugießen, in 3—5 Minuten zweimal wechseln.

4. Begießen mit folgender Lösung: Pyrogallussäure 3,0g, dest. Wasser 94,0g, Formalin 36—40% 5,0g. Jedesmal frisch zu bereiten; stark schütteln, bis Pyrogallol ganz aufgelöst ist. 24 Stunden im Dunkeln lassen bei Zimmertemperatur.

5. Abgießen. Aufgießen von dest. Wasser; innerhalb 24 Stunden mehrmals wechseln.

6. In 70—90prozentigen, dann absoluten Alkohol, Xylol, Paraffin.

Bezüglich der Herkunft der Parasiten in der Plazenta äußert sich Trinchese folgendermaßen: Das Blut des Kindes ist spirochätenhaltig. Der Blutstrom bewirkt die Verbreitung der Spirochäten. Sie gelangen durch die Nabelschnurarterien in die Plazenta, wo sie sich auf der sehr ausgedehnten Fläche des Plazentargefäßsystems verteilen. Dadurch wird ihre geringe Zahl und auch die Anwesenheit in den Wandungen der großen Blutgefäße der Plazenta (Bab und Graefenberg) erklärt, indem die Parasiten aktiv aus dem Blutstrom in die Gefäßwände eindringen. In der Hauptsache treten sie aber durch die Wände der kleinsten Gefäße in das Zottenstroma aus, ohne an den Gefäßen sichtbare Veränderungen hervorzurufen. Im Zottenstroma können sie offenbar längere Zeit lagern. Ihr relativ reichliches Vorhandensein daselbst läßt auf günstige Lebensbedingungen schließen. Vermöge ihrer Eigenbeweglichkeit kriechen sie durch das Gewebe und kommen vom Innern der Zotten her am Syncytium an, woselbst sie Veränderungen verursachen; zehnmal wurden Treponemen bei knotenförmigen Epithelwucherungen festgestellt, die als durch die Parasiten veranlaßt und als wichtiges diagnostisches Zeichen der syphilitischen Erkrankung der Plazenta aufgefaßt werden. Trinchese glaubte weiterhin, aus Präparaten auf den Übertritt von Spirochäten aus dem kindlichen in den mütterlichen Kreislauf schließen zu können. Das aktive Vordringen der Spirochäten zum mütterlichen Anteil der Plazenta hin finde hauptsächlich in der Zeit des Absterbens der Frucht statt. Denn Plazenten von lebendgeborenen Kindern zeigten viel weniger Spirochäten, als die von mazerierten. „Das Kind ist der Sammelplatz der Spirochäten, von wo aus fortwährend einzelne bestrebt sind, in die wenig überfüllte Mutter überzugehen.“ Trinchese sagt weiter: „Aus meinen Beobachtungen glaube ich in Übereinstimmung mit Baisch schließen zu können, daß jede Frau, die ein luetisches Kind gebärt, dieses durch die im eigenen Blut zirkulierenden Spirochäten infiziert hat.“ Ohne weiteres ist das denkbar, wenn die Mutter selbst luetisch ist. Wenn zunächst nicht, dann könnten die Treponemen mit der Spermaflüssigkeit ins Endometrium gelangen und von dort aus erst die Mutter infizieren, worauf diese dann das Kind ansteckt. Paterne Übertragung scheint ausgeschlossen: denn 1. ist die Pallida zu groß, als daß sie im Spermatozoon transportiert werden könnte. Auch Eindringen ins Ovulum scheint ausgeschlossen (auch Bab); 2. eine Infektion durch Eindringen der Treponemen zwischen die einzelnen Keimzellen des Embryo würde den Keimungsprozeß wesentlich stören; 3. Analogie mit Rekurrens (kann auch

auf Fötus übergehen). Nach den genannten und anderen neueren Untersuchungen (Wechselmann, Baisch, Zieler) sind die Mütter nicht immun (Colles'sches Gesetz), sondern latent luetisch. Sie infizieren das Kind, entweder durch den Kreislauf oder auch während der Geburt. Nattan-Larrier und Brindeau hielten es für möglich, daß die Spirochäten von Mutter auf Kind vermittels der Leukozyten oder durch Gefäßruptur in den Zotten übergehen. Nach Wechselmann läßt die Plazenta die im Mutterblut kreisenden Spirochäten nicht direkt übertreten. Sie gelangen vielmehr zunächst in die Plazenta, finden dort günstige Entwicklungsbedingungen und wachsen dann in die fötalen Zotten und ihre Kapillaren hinein. Die Mutter spiele also die Rolle einer „Bazillenträgerin". Rietschel ist der Ansicht, daß die meisten Kinder während der Geburt infiziert werden. Im Gegensatz hierzu schließen Fieux und Mauriac aus einer Beobachtung, daß die Spirochäten bei postkonzeptioneller Syphilis zu jeder Zeit in der Schwangerschaft die Plazenta durchdringen und zu einer Infektion der Frucht führen können: eine Ende des 6. Monats infizierte Frau gebar 2½ Monate später ein mazeriertes Kind mit massenhaft Spirochäten. — Sehr richtig sagt Zieler, daß es keine Vererbung, sondern nur eine kongenitale Übertragung der Lues gibt. — Auch das Profeta'sche Gesetz besteht nicht zu Recht: Die Kinder sind nicht immun, sondern in Wirklichkeit latent syphilitisch.

5. Resultate.

Aus den zahlreichen pathologisch-anatomischen Untersuchungen bei erworbener und kongenitaler Syphilis kann man folgende Schlüsse ziehen:

Bei der erworbenen Infektion dringen die Treponemen (nach Schridde, wenn Stratum lucidum und corneum defekt sind, eventuell auch ohne eigentliche Verletzung) durch die Haut ein. Alsdann erfolgt nach Levaditi und Yamanouchi — die das Schicksal von implantierten treponemahaltigen Corneastückchen in der Kaninchen-Cornea und Affen-Subcutis verfolgten —, die Vermehrung nicht sofort, sondern erst einige Zeit später, und zwar zunächst in dem um die eingedrungenen Mikroorganismen sich bildenden Granulationsgewebe, im engsten Anschluß an die neugebildeten Blut- und Lymphgefäße und die diese umgebenden protoplasmatischen Zellen. So sei die **Inkubation** nicht auf einen unbekannten Entwicklungszyklus der Pallida zurückzuführen, sondern durch langsame Adaptierung an die neue Umgebung zu erklären. Sobald die Existenz- und Entwicklungsbedingungen in dem Granulationsgewebe günstiger geworden seien, gehe die Vermehrung schneller vor sich, und es treten dann bald die makroskopischen Veränderungen auf, womit die Inkubation abschließt. Die **Vermehrung** der Treponemen geht nach Hoffmann u. a. hauptsächlich in den Lymphspalten und Lymphbahnen vor sich. Nachdem die Parasiten ins Bindegewebe und in die Gefäße eingedrungen sind, werden sie vorwiegend auf dem Blutwege (weniger Lymphwege) im Organismus verbreitet, worauf dann gleichmäßig die Sekundärerscheinungen auftreten. An den einzelnen Lokalisationen können die Treponemen offenbar auch im Bindegewebe selbst, zwischen Muskelfasern, in Nervenbündeln usw. sich vermehren und nach der Richtung des geringsten Widerstandes hin aktiv vordringen.

Auch bei der kongenitalen Lues handelt es sich um eine Art **Blutseptikämie**; sei es, daß man eine paterne oder die wahrscheinlichere, auf jeden Fall häufigere mütterliche Infektion annimmt; jedenfalls wird der kindliche Organismus meist von Parasiten überschwemmt.

Aus den pathologisch-anatomischen Untersuchungen geht ferner, wie wiederholt betont ist, auch das aktive Eindringen der Treponemen in intakte Zellen, also ein **Zellparasitismus** hervor. Schaudinn hielt auch schon die Pallida für einen „echten Zellschmarotzer"; auch Bandi und Simonelli sowie andere nehmen einen echten Zellparasitismus an.

Auf die intimen Beziehungen der Treponemen zu den spezifischen Veränderungen des charakteristisch hypertrophischen Bindegewebes, der Blut- und Lymphgefäßwände und der umgebenden Infiltration, ferner auch im Parenchym der Organe, Drüsenepithelien usw. ist schon hingewiesen. Aus diesen charakteristischen Beziehungen lassen sich berechtigte Schlüsse auf die spezifische Pathogenität des *Treponema pallidum* ziehen, die insbesondere auch noch durch die Treponemabefunde gerade an den Stellen der Progredienz einer syphilitischen Affektion, z. B. am Rande von Darmgeschwüren, ulzerösen Syphiliden, in der Peripherie von Gummaknoten, ferner von Knochenauflagerungen, Zahnkeimen usw. erhärtet werden.

Scheinbare Abweichungen von der Regel, also bedeutende Gewebsveränderungen mit wenig oder keinen Treponemen oder umgekehrt lassen sich auch erklären: Die Treponemen dringen, z. B. bei Lues congenita, zunächst zahlreich ein und können sich schon bedeutend vermehrt haben und nachzuweisen sein, ehe die Gewebe auf die Invasion reagiert haben und deutliche histologische Veränderungen vorhanden sind: also scheinbar normale Organe mit vielen Parasiten. Solche Befunde kann man eventuell auch mit verschiedenen Autoren durch die Möglichkeit einer Invasion kurz vor dem Tode erklären. Simmonds glaubte gar, daß eine postmortale Anreicherung bei den intrauterin abgestorbenen Föten stattfinden könne. — In anderen Fällen geht die Zahl der Treponemen mit zunehmendem Alter des Erkrankungsprozesses, offenbar gerade unter dem Einfluß der Gewebsveränderung (Levaditi, Versé u. a.) meist bald zurück, bis sie schließlich ganz verschwinden oder sie ziehen sich in die schützenden Epithelien zurück. So wird die entzündliche Bindegewebshypertrophie als eine Abwehrmaßregel des Organismus gegen die Treponemen angesehen. Daher findet man namentlich in destruierten Partien keine Parasiten mehr. Nach Levaditi u. a. erfolgt die Elimination der Treponemen zum Teil auch durch Phagozytose, wie sie von vielen Beobachtern festgestellt ist (u. a. auch von Schaudinn, Gierke, Ehrmann). M. Rabinowitsch bestreitet allerdings energisch diese Phagozytentheorie im Sinne Metschnikoffs: „Die ganze Phagozytenlehre ist unhaltbar.“

Am längsten verbleiben die Treponemen anscheinend in den Lymphdrüsen, vielleicht auch im Knochenmark, so daß diese Organe als Dauerherde in Betracht kommen, von denen spätere Nachschübe ausgehen können. Daß sich auch Parasiten an den Orten früherer Affektionen (Haut, Tonsillen) eventuell jahrelang nach der Rückbildung halten können, ist an anderer Stelle erörtert (S. 367).

IV. Entwicklungsstadien.

1. Vermehrung.

Bei der ersten Beschreibung der Pallida-„Geißeln“ schien es Schaudinn (1905) nicht unwahrscheinlich, daß die von ihm gesehenen, meist kürzeren, dickeren Spirochäten mit 2 Geißeln an einem Ende „vor der **Längsteilung** standen, und daß wie bei den Trypanosomen die Verdopplung der Geißeln diesen Vorgang einleitete“. Leider war es dem Entdecker der Pallida nicht mehr beschieden, seine im Hamburger Tropeninstitut fortgesetzten weiteren entwicklungsgeschichtlichen Studien — wie beabsichtigt — in einer größeren Arbeit niederzulegen. Aus seinem Nachlaß konnten jedoch noch einige seiner Resultate in dankenswerter Weise von seinen Freunden Hartmann und v. Prowazek im Jahre 1907 mitgeteilt werden. So heißt es in einem Bericht Schaudinn's aus dem Dezember 1905: „Die Geißeln an den Polen der Spirale kann ich infolge großer Übung nunmehr auch am lebenden Objekt wahrnehmen; was aber noch wichtiger ist, es gelang mir in bereits 3 Fällen, die Längsteilung des Organismus direkt zu beobachten. Ich wählte für die Verfolgung dieses Vorgangs Individuen aus, die

bereits an einem Pol 2 deutliche Geißeln aufwiesen, und sah nun, wie im Verlauf weniger Sekunden von diesem Pol aus die Längsteilung fortschritt. Hierbei gibt der Organismus seine stark spiralige Form auf und wird ganz unregelmäßig gewunden. Erst wenn die Teilungsprodukte fast ganz gespalten sind und nur noch an den Hinterenden zusammenhängen, nehmen sie wieder die regelmäßige Korkzieherform an. Diesen Vorgang der Längsteilung kann ich nun auch durch eine Serie von Präparaten von der Spaltung des Geißelpols Schritt für Schritt bis zur vollständigen Trennung belegen."

SCHAUDINN's Photogramme sind zum Teil in der Publikation von HARTMANN und v. PROWAZEK wiedergegeben. Die SCHAUDINN'schen Beobachtungen stimmen mit den Ansichten mancher anderer Untersucher überein (KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI, HERXHEIMER, HOFFMANN, BODIN, BERGER, NICOLAS, BEER, MÜHLENS und HARTMANN, v. PROWAZEK u. a.). KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI (1905) hatten unabhängig und noch vor Bekanntwerden der Beobachtungen SCHAUDINN's, also zuerst, die Längsteilung als Vermehrungsform des Treponema beschrieben und abgebildet (bereits im Juli 1905 in Przeglad lekarski und Monatsheften für praktische Dermatologie 1905 Bd. 41). Ihre Beobachtungen bilden wertvolle Beiträge für die Frage der Art der Teilungsvorgänge. Sie halten absolut sicher die Längsteilung für den gewöhnlichen Modus und nehmen eine Querteilung nur bei der Abschnürung kleiner Formen mit wenigen Windungen von großen an. KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI hatten deutlich die Längsteilung in ähnlicher Weise, wie es in SCHAUDINN's Nachlaß beschrieben ist, verfolgt. Die an einem Ende beginnende Zweiteilung schritt zunächst schnell bis zur Y-Form fort. Dann ging die Teilung langsamer weiter (— das Endstadium kann anscheinend lange bestehen bleiben —), bis die beiden Teilprodukte nur noch an einem Ende durch eine feine Brücke verbunden zusammenhingen und sich schließlich ganz trennten. W. SIEBERT (1908) u. a. beschreiben die Längsteilung ganz analog. v. PROWAZEK (1907) beobachtete auch Längsteilungsstadien bei *Spirochaeta pallida* von Affen-Primäraffekt. Die meisten Anhänger der Längsteilungstheorie haben ihre Ansicht aus der Kombination von gefärbten Präparaten gewonnen, aus denen sich die verschiedenen Stadien zusammenstellen ließen (siehe die Abbildungen nach KRZYSZTALOWLCZ und SIEDLECKI, Tafel VII Fig. 11—15): zunächst die beginnende Teilung in Y-Form, dann die vorgeschrittene Teilung in V-Form, schließlich die mehr oder minder U-förmig oder gänzlich gestreckt in gerader Linie auseinandergeklappten Formen mit feiner Brücke in der Mitte. — KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI u. a. beschreiben auch Formen, bei denen sich die Teilung bei erhaltener Kontinuität mehrmals wiederholt hat, so daß die entstandenen Treponemen eine lange ununterbrochene Kette von durch feine Verbindungsfäden zusammenhängenden Einzelindividuen bilden.

Analoge Längsteilungsvorgänge sind bei vielen anderen Spirochäten beobachtet und beschrieben.

Die Längsteilung als Vermehrungsmodus der Pallida und der Spirochäten überhaupt ist nicht allgemein anerkannt. BORREL, LAVERAN, ZETTNOW, R. KOCH, LEVADITI, MAC WEENEY, GOLDHORN, SOBERNHEIM u. a. nehmen eine Vermehrung durch **Querteilung** an. Gerade die aneinanderhängenden Formen mit dünnen Verbindungsfäden werden als beweisendes Querteilungsstadium angesehen. Es handelt sich dann allerdings um einen von der typischen Querteilung der Bakterien verschiedenen Teilungsmodus bei diesem Ausziehen des Periplasts zu langen dünnen Fäden, die dann nachher als die „Fortsätze" sichtbar bleiben. Die Teilungsbilder mit dem anscheinenden Längsteilungsstadium werden durch partielles zopfartiges Verflechten bzw. Wiederaufrollen von je zwei Spirochäten erklärt. Beide sich diametral gegenüberstehenden Meinungen haben auch in den letzten Jahren noch neue Anhänger gefunden, so daß eine Einigkeit in den Ansichten so bald noch nicht zu erwarten ist. Betont sei, daß die meisten Zoologen

die Längsteilung für sicher halten, während eine Anzahl von Dermatologen und auch Bakteriologen mehr zu der Annahme der Querteilung neigen (neuerdings auch Gross).

2. Entwicklungszyklus, Geschlechtsformen (?).

Über die zeitliche Aufeinanderfolge und die Art der Wiederholung der Teilungsvorgänge wissen wir so gut wie nichts. Manche Beobachter reden von Wachstumsmaxima und -minima, die mit vollständigem Verschwinden der Spirochäte selbst bei bestehender Effloreszenz miteinander abwechseln sollen (z. B. Vörner (1907)). Herxheimer und Opificius (1905) gaben in einer ihrer ersten Arbeiten an, daß in den zur Nachtzeit entnommenen Präparaten stets eine bedeutend vermehrte Spirochätenzahl gefunden worden sei, woraus auf die Abwechslung von Ruhe- und Vermehrungsperioden geschlossen wurde. Ferner ist wiederholt in der Literatur darauf hingewiesen, daß die Spirochätenzahl in derselben Affektion von einem zum anderen Tag oder noch schneller wechseln kann. — Sehr verlockend klang die im Jahre 1905 von Krzysztalowicz und Siedlecki aufgestellte Theorie: die gewöhnliche, in Ausstrichen zu findende vegetative Form vermehre sich durch Längsteilung (agamer Vermehrungsmodus). Außer diesem gäbe es aber noch eine geschlechtliche Fortpflanzung, bei der sich die kurzen dicken weiblichen Formen („formes courtes et grosses“, Makrogameten) mit den kleineren zarteren männlichen („formes petites et fines“, Mikrogameten), beide mit wenigen groben Windungen, vereinigten. (Also eine gewisse Analogie zu den Beobachtungen Schaudinn's bei Leukocytozoon Ziemanni.) Bei der Betrachtung der Abbildungen von Krzysztalowicz und Siedlecki kann man sich jedoch des Eindruckes nicht erwehren — wie das auch schon von Hoffmann und Levaditi hervorgehoben ist —, daß die abgebildeten Formen zum Teil anderen Spirochätenarten angehören. Solche wuchern ja bekanntlich nicht selten namentlich in ulzerierenden oberflächlichen Affektionen, wie sie bei den Krzysztalowicz-Siedlecki'schen Untersuchungen zuerst zur Materialentnahme verwandt wurden. Bisher fehlt es an einer Bestätigung der Geschlechtsformen und sie wird wohl auch vielleicht nicht kommen, zumal auch Krzysztalowicz und Siedlecki selbst in ihrer späteren ausführlichen schönen Arbeit (1908) ihre Ansicht schon wesentlich modifiziert haben. Zwar betonen sie wiederum das Vorkommen der beiden Typen in den verschiedensten syphilitischen Läsionen, selbst in trockenen, nicht ulzerativen. Auch weisen sie darauf hin, daß Malinowski ähnliche Formen in einem Gumma gefunden hat, ferner Karwacki in den verschiedensten syphilitischen Läsionen. Krzysztalowicz und Siedlecki halten auf jeden Fall die beiden Formen für „un stade nouveau de la vie de la spirochète“. Ihr Erscheinen sei manchmal ziemlich plötzlich in Affektionen (selbst geschlossenen), die vorher nur Normaltypen zeigten, anscheinend dann, wenn die Lebensbedingungen der Pallida sich ändern, weniger günstig werden. Dies sei vielleicht mit gewissen Krankheitsstadien verknüpft. Sicher handle es sich bei den Formen um normale, nicht etwa degenerierte Individuen. „Ce stade nouveau pourrait être le stade de la réproduction sexuelle où les formes décrites ci-dessus (d. h. „formes grosses et courtes sowie petites et fines) pourraient participer comme cellules différenciées sexuellement.“ — v. Prowazek hat die Vermutung einer möglichen **Autogamie** ausgesprochen auf Grund der folgenden Beobachtung: Er sah ein Stadium, in dem die offenbar aus einer nicht ganz zu Ende geführten Teilung hervorgegangenen Spirochäten ihr Chromatin (— das sonst in Form von Chromidien diffus zentral verteilt ist —) stark verdichtet hatten, worauf die beiden Kernstäbe zu einer zentralen, dicken chromatischen Spirale sich verbanden, während die beiden leeren Periplaste als eine Art von Geißelanhängen dem mittleren stark tingierten Teil angegliedert waren (Tafel VII Abb. 29). „Auf diese Weise scheint eine Autogamie oder Selbstbefruchtung stattzufinden, von der Schaudinn und später ich bei der Hühnerspirochäte einzelne Stadien gesehen haben.“

Von verschiedenen Seiten ist behauptet worden, daß die Pallida kein selbständiger Organismus sei, sondern nur ein **Entwicklungsstadium** in dem Zyklus eines anderen Organismus.

Schon Schaudinn hatte die Vermutung angedeutet, die Pallida könnte eine vorübergehende Phase im Entwicklungsgang eines Protozoons sein, dessen übrige Gestalten wir vorderhand noch nicht kennen. Ähnliche Ansichten sind später auch von einigen anderen ausgesprochen worden (so z. B. von Eitner).

Manche Autoren, insbesondere Mac Lennan, konstruierten einen Zusammenhang der Pallida mit dem Siegel'schen „Syphiliserreger", dem *Cytorrhyctes luis.* Mac Lennan beschrieb Übergangsformen und glaubte, daß das Pallidastadium aus den namentlich in Frühprodukten, Drüsen, Exkreten, im Blute usw. im Gegensatz zur Pallida stets reichlich vorhandenen Cytorrhycten sich insbesondere dann bilde, wenn die Daseinsbedingungen für den Syphiliserreger erschwert seien; so fand Mac Lennan die Pallida stets leichter, wenn die Quecksilberbehandlung begonnen hatte. (Über die Entwicklungsformen von Leuriaux und Geets in Kultur. S. p. 412.)

Weiterhin wurde versucht, die Pallida mit anderen „Syphiliserregern", deren bekanntlich noch eine ganze Menge entdeckt sind, in Zusammenhang zu bringen. v. Nissen hält immer noch an seinen polymorphen Syphilisbakterien fest und hat die Ansicht ausgesprochen, die Pallida sei ein Myzet, eine der vielen Entwicklungsformen seines polymorphen Syphiliserregers! Schaudinn hat seinerzeit in Nissen's Präparaten auch nicht eine einzige der Pallida ähnliche Form feststellen können, womit sich eine weitere Diskussion über diese Frage erübrigen dürfte.

Eine sehr merkwürdige Theorie entwickelt auch Spengler (1911), der die Pallida als „eine Scheinfadenwuchsform seines alkohol- und säurefesten Syphilis-Ovoid-Bazillus ansieht, die dem Warmblüter-Organismus des Menschen und Kaninchens eigentümlich" sei. Weiterhin beschreibt derselbe Autor im Entwicklungszyklus ein dem Tuberkulosekorn (Splitter) ähnliches Korn, das „alkoholfeste Syphiliskorn". Es soll aus den auf künstlichen Nährböden quellenden und sich auflösenden Pallidae als minutiöses Körnchen heraustreten, um sich selbständig weiter zu entwickeln; es sei sporoider Natur wie das Tuberkulosekorn und die Grundform des aus ihm langsam herauswachsenden alkohol- und partiell säurefesten Syphilisstäbchens. Bei Kaninchen-Impfungen an den Löffeln mit Kulturen dieser Syphilisstäbchen entständen, ebenso wie bei Impfungen mit Blut von florid Sekundärsyphilitischen, kleine Gummageschwulst-ähnliche Tumoren mit zahlreichen Spirochäten in ihrem weichkäsigen Inhalt. Aus diesen ließen sich dann wieder Körner und Stäbchen in der beschriebenen Weise auf „Humanolongus-Agar" züchten (= Somatose, Pepton-Chapoteaut, Pept. sic., Kochsalz $\overline{aa}$ 5,0, Kristallsoda $2^1/_4$—$2^1/_2$ g, Glycerin 40—50 ccm, Agar 15g, Aqu. 1000 ccm). — Für die Impfungen eigneten sich aber nur gut sensibilisierte Kaninchen, Tiere, die schon ein- oder mehrmals mit Syphilis infiziert waren und spontan heilten. Spengler sagt wörtlich: „Der Spirochäten-Scheinfaden ist die Ursache des Ulcus durum und mit Korn und seltenen Stäbchen auch der Sekundärsyphilis. Korn und Stäbchen sind die Hauptrepräsentanten der Tertiärsyphilis. Alle Wuchsformen sind züchtbar. Das Stäbchen ist die kulturstabilste Form" usw. — Diese Theorie hat einen Grundfehler, daß es sich nämlich bei den von Spengler als *Spirochaete pallida* angenommenen Gebilden gar nicht um solche handelt. Jedenfalls kann man aus den Spengler'schen Abbildungen mit dem besten Willen keine Pallida erkennen.

Zabolotny und Maslakowetz (1907) hatten die Ansicht geäußert, daß sich die Spirochäten ähnlich den Geißeln bei der Malaria entwickelten.

Andere sind der Meinung, daß namentlich in manchen, so in tertiären, in malignen Syphilisprodukten, mit denen sich — ohne gelungenen Pallidanachweis — tierexperimentell Syphilis erzeugen lasse, die Pallida in einer anderen Entwicklungsform vorhanden

sein müsse. Als solche sind dann die verschiedensten, zum Teil schon beschriebenen Gebilde gedeutet. — Buschke (1911) scheint mit der Möglichkeit zu rechnen, daß das gewöhnliche Krankheitsbild der relativ gutartigen Lues, wie wir sie heute kennen, durch Hinzutreten der Spirochäteninfektion entstanden sei, daß mithin die Syphilis an sich nicht durch Spirochäten erzeugt wäre.

3. Ruheformen; Involutions- und Degenerationsformen, Depressionsstadien.

Neben den bisher genannten Entwicklungsformen sind vielfach **Ruhestadien** beschrieben worden. Schaudinn und Hoffmann erwähnten bereits in ihrer ersten Mitteilung folgende Beobachtung: Bei Zusatz von konzentriertem Glyzerin büßten manche Spirochäten sofort ihre Windungen ein und streckten sich gerade aus; dann zog sich allmählich der Stab zu einem kurz spindelförmigen, an Malariasporozoiten erinnernden Gebilde zusammen; die Verkürzung schritt in einem sicher beobachteten Falle bis zur Erreichung einer kurz ovalen Gestalt fort. Derartige Formen wurden noch nach 24 stündiger Glyzerinbehandlung gefunden. Ähnliche Gebilde fanden sich neben den typischen Spirochäten auch in gefärbten Ausstrichen. In einer Fußnote sagt dann Schaudinn: „Ob es sich hier um etwaige Ruhezustände der Spirochäten handelt (— ähnliche Stadien kenne ich bei den Rekurrensspirochäten aus der Milz des Kranken und aus dem Darm der übertragenden Wanze —) kann nur langdauerndes vergleichendes Studium der Entwicklungsgeschichte der verschiedenen Spirochäten-Arten entscheiden.“

Darin kann man Schaudinn nur beistimmen, auch bezüglich der von manchen anderen angenommenen Ruheformen.

Viele der in der Literatur, namentlich der ersten Zeit beschriebenen Ruhe-, Latenz- usw.-Formen gründeten ihre Existenzberechtigung lediglich auf Vermutungen und sind auch teilweise später von ihren Entdeckern nicht aufrecht erhalten worden. Als Ruhestadien sind teils Körnchen (zuerst von Herxheimer (1905), teils kleinstäbchen- bis wurstförmige Gebilde (Wechselmann und Löwenthal (1905)), teils auch aufgerollte Spirochäten mit und ohne kleine knötchenförmige Anschwellungen beschrieben (zuerst von Herxheimer, dann besonders eingehend von Krzysztalowicz und Siedlecki sowie von v. Prowazek.) Nach v. Prowazek beginnt die Entstehung der Ruhestadien, die er auch in Affenprimäraffekten sah, mit „der Ausbildung eines Endkörperchens, von dem eine weitere Aufrollung und Verklumpung des Spirochätenfadens ausgeht“. Auf diese Weise werde das Auftreten der von vielen Autoren beschriebenen Endkörperchen erklärt, die namentlich in älteren Affektionen zu suchen seien. Aus ihrer Existenz könne man vielleicht die oft langen Latenzperioden der syphilitischen Erkrankung erklären.

Diese vermeintlichen Ruhestadien unterscheiden sich von den von Schaudinn vermuteten, ferner von den Formen von Wechselmann und Löwenthal (— deren Bedeutung von Kraus und Prantschoff bestritten wird —) wesentlich.

Außer diesen Formen sah v. Prowazek (ähnlich wie vorher auch andere bei Menschensyphilis) noch in Affenprimäraffekten „eigenartige gleichsam ausgezogene, ihrer korkzieherartigen Windungen teilweise beraubte Spirochäten, die die Tendenz besaßen, sich einzurollen, sich zu verknoten und allerhand Schlingen zu bilden“. Er faßte diese Stadien in der vegetativen Entwicklungsperiode als „besondere **Depressionsstadien** im Lebenszyklus der Spirochäten“ auf (s. Tafel VII Fig. 28). Calkins und R. Hertwig hatten besonders bei Protozoen Depressionsstadien studiert, in denen infolge einer Störung der physiologisch wichtigen, für jedes Lebewesen konstanten Relation zwischen Kern- und Protoplasmamasse die vegetative Lebenstätigkeit der Mikroorganismen unter die Normale sinkt; sie „muß dann erst wieder

durch besondere Regulationsvorgänge des intimsten Zelllebens behoben werden". v. Prowazek bemerkt noch, daß die Weiterimpfung mit an diesen „Depressionsstadien" reichem Material gelang. — Eine ähnliche Beobachtung ist auch von Krzysztalowicz und Siedlecki berichtet. Sie sahen auch häufig in Primäraffekten und auch sekundären Läsionen „in einem gewissen Krankheitsstadium" plötzlich das Vorhandensein von „formes à boucles" neben ganz normalen Spirochäten, nachdem vorher diese Formen nicht nachzuweisen waren. Kr. und Si. unterscheiden (ähnlich wie v. Prowazek) zwei Typen: 1. die eigentlichen „formes de repos", die in der zuerst von Herxheimer angegebenen, dann auch von v. Prowazek beschriebenen Weise (s. oben) sich aus regelrechten Spirochäten bilden; 2. die „formes entortillées et épaissies", die verschlungenen und plumpen dicken Formen, die aus den geknitterten Spirochäten (formes ramollies) entstehen und zu Keulen und kurzen Formen oder zur Degeneration der Spirochäten führen können. Krzysztalowicz und Siedlecki beschreiben ausführlich die vermeintliche Art der Bildung der verschiedenen Formen, wobei auch auf das Vorkommen der auch von anderen beobachteten körnchenartigen Einlagerungen eingegangen wird. Dabei ist die Theorie von Karwacki, daß die „ringförmigen" Gebilde aus freien oder in den Spirochäten gelegenen „grains" hervorgingen, als unwahrscheinlich hingestellt. Krzysztalowicz und Siedlecki kommen zu dem Schluß, daß die Ringformen (formes annulaires) (Tafel VII Figg. 21 u. 22) das definitive Ruhestadium der Pallida darstellen, während sie die „formations compacts ou en baguette" (Stäbchen) als Depressionsstadien (im Sinne von Calkins und Hertwig) und endlich die „individus oblongs et granuleux" als Degenerations-, Auflösungsform ansehen, die durch eine Art Plasmolyse zustande käme. Wie die Tafel VII Figg. 26 u. 27 wiedergegebenen Abbildungen von Krzysztalowicz und Siedlecki zeigen, handelt es sich bei den letzteren um nach Giemsa hellblau gefärbte Gebilde mit roten Körncheneinlagen. Ob diese wirklich zum Spirochätenzyklus gehören, scheint jedoch keineswegs genügend sichergestellt.

Anschließend sei noch bemerkt, daß auch bei anderen Spirochäten analoge Ruheformen vermutet sind.

Kürzlich sah Mühlens (nicht publ.) in mit Loeffler-Beize gefärbten Präparaten sowohl von einem geschlossenen Kaninchenprimäraffekt als einem ziemlich frischen menschlichen Primäraffekt und von kongenitaler Leberlues neben vielen typischen Pallidaexemplaren auch eine ganze Anzahl der „geknitterten" und „Einrollungsformen" in den verschiedensten Stadien. In den Photogrammen Tafel VIII Figg. 19—30 ist eine Serie dieser Bilder wiedergegeben. Die Abbildungen bedürfen keiner Erläuterung. Auch die in Fig. 15 abgebildete Form mit undulierender Membran (?) fand sich in demselben, sonst so gut wie reinen Material von Kaninchen-Primäraffekt. Ich halte sie für ein Refringensexemplar, nicht etwa für eine Entwicklungsform.

Wenn auch Wahrscheinlichkeitsgründe für das Vorkommen von anscheinend resistenten Ruhe- bzw. Dauerformen, etwa in Gestalt der aufgerollten Spirochäten mit knopfartigen Verdickungen zu sprechen scheinen, so kann deren Existenz und Bedeutung doch noch nicht als einwandfrei bewiesen gelten. Und so erkennen auch manche namhafte Mikrobiologen, wie z. B. Levaditi und Roché diese Auslegung der aufgerollten Formen nicht an. Sie betrachten sie lediglich als ein „signe de dégénérescence et d'involution". — Mühlens (nicht publ.) hatte kürzlich auch wieder den Eindruck, daß das Vorkommen der Einrollungs- und geknitterten Formen nicht unwesentlich von der Art der Herstellung der Ausstrichpräparate beeinflußt ist: Während im lebenden Präparate vom Kaninchenprimäraffekt nur typische Exemplare mit regelrechten Windungen gesehen wurden, fanden sich in manchen Ausstrichen die abenteuerlichsten Gebilde (Tafel VIII Figg. 19—30 u. 4) neben typischen Exemplaren mit schönen regelmäßigen Windungen. In anderen Präparaten vom selben Material waren die

atypischen Formen dagegen wesentlich seltener. Ähnlich so verhielten sich auch Treponemen von kongenitaler Leberlues (siehe Tafel IX Figg. 1—3). Die meisten der Formen halte ich eher für Degenerations-, Absterbeerscheinungen oder dgl., als für Ruhestadien. Für die sichere Annahme der letzteren bedarf es vor allen Dingen noch des sehr eingehenden Nachweises und genauerer Studien eben derselben Formen in lebenden Präparaten. Das gefärbte Ausstrichpräparat kann nicht allein für die Annahme solcher Stadien maßgebend sein.

Hier sei noch eine Beobachtung von BALFOUR angeführt, der körnchenartige Gebilde (wie sie ähnlich bei Blutspirochätenkrankheiten als Dauer- bzw. Entwicklungsstadien angenommen sind) als Dauerform der Pallida beschrieb. Er glaubt ihre Entstehung im hängenden Tropfen von Serum aus einer syphilitischen Mundschleimhautaffektion eines Kranken, der vorher 0,3 g Salvarsan erhalten hatte, beobachtet zu haben.

Wie sich auch immer diese Fragen aufklären mögen, auf keinen Fall scheint es sich bei den supponierten Ruhestadien um „Sporen" zu handeln, wie wir sie bei den Bakterien kennen.

Die Streckung der Treponema-Spiralen bedeutet offenbar eine Absterbeerscheinung. Das läßt sich folgendermaßen leicht feststellen: Wenn man ein Organstück oder dgl. frisch untersucht, dann findet man zunächst fast nur oder in weit überwiegender Zahl typisch gewundene Exemplare. Bewahrt man dann aber das Stückchen auf und untersucht von Tag zu Tag wieder Ausstriche, dann ist eine deutliche progressive Zunahme der unregelmäßigen Formen sowie auch der Aufrollungen festzustellen, zumal nachdem die aktiven Bewegungen der Treponemen aufgehört haben. Weiterhin findet man namentlich in Ausstrichen von einige Zeit vorher abgestorbenen Früchten (bei mazerierten Föten) die geknitterten ausgezogenen Formen mit unregelmäßigen Windungen besonders zahlreich.

Über die Lebensdauer des *Treponema pallidum* außerhalb des menschlichen Körpers s. S. 388.

Mitunter beobachtet man in Ausstrichen von syphilitischen Produkten lebend sehr dünne, sich wellenartig schlängelnde feine Fäden, auf die schon von verschiedenen Seiten aufmerksam gemacht worden ist (BEER u. a.). Sie lassen sich ohne weiteres durch ihre glatten nicht gewundenen Konturen von den Spirochäten unterscheiden. Am Ende des Fadens sieht man nicht selten kugelförmige oder ovale Anschwellungen. Derartige Fäden (mitunter von 20—40 μ Länge) sah ich selbst auch häufiger in mit LOEFFLER-Beize gefärbten Präparaten (s. Tafel VIII Fig. 18). Ihre Deutung steht noch aus. Wahrscheinlich haben sie mit der Lues nichts zu tun. BEER sagt, indem er auf ähnliche Befunde im Hühner- und Hundeblut hinweist: „wahrscheinlich sind auch sie wie die kleinen Körperchen Zerfallsprodukte des Zellprotoplasmas."

4. Filtration.

Das Treponema scheint Filter nicht zu passieren, anscheinend auch nicht in einer Dauerform. KLINGMÜLLER und BÄRMANN (1904) sowie CASAGRANDI und DE LUCA (1906) konnten mit Filtrat nicht infizieren. C. SIEBERT filtrierte Papelbrei mit mäßig zahlreichen Parasiten durch Filtrierpapier und fand dann nur noch wenige, nach Filtration durch Tonfilter überhaupt keine Treponemen mehr im Zentrifugat. Ferner ergaben sorgfältige Versuche METSCHNIKOFFS u. a., daß das syphilitische Virus nicht durch Filter hindurchgeht. Demgegenüber beweist eine Beobachtung von JANCKE nicht die Filtrationsfähigkeit, wenn er einmal durch Impfung mit Filtrat (Chamberland-Filter unter hohem Druck) von Organsaft eines 6 Monate alten Fötus bei einem Affen einen typischen Primäraffekt nach 35 Tagen entstehen sah, zumal der Treponemanachweis nicht erbracht wurde.

Noguchi hat neuerdings ein Hindurchwachsen der Kulturspirochäten durch Chamberland-Filter beobachtet. Dazu eigneten sich aber nicht alle Filter. Noguchi erwähnt dabei auch, daß die Filtration nicht gelingt.

V. Künstliche Kultivierung.

Eine der gegenwärtig wichtigsten Fragen der Treponema-Forschung ist die der Kultur. Wohl bei keinem Mikroorganismus sind so zahlreiche Kulturversuche vorgenommen worden, wie bei dem *Treponema pallidum*. Es ist unmöglich, die vielen ohne Erfolg probierten Nährböden hier aufzuzählen. Die positiven Resultate mögen genügen.

Zuerst berichteten Volpino und Fontana (1906) über eine gelungene Pallida-Anreicherung. Sie hatten exzidierte syphilitische Produkte (Primäraffekt- und feuchte Papel-Ausschnitte) nach gründlicher Reinigung und Desinfektion in Blut, Serum, Serumagar und andere Nährböden eingelegt und sahen nach wochenlanger Aufbewahrung im 37° Brutschrank noch lebende Treponemen, ja eine deutliche Vermehrung. In Material, in dem vor der Kultur keine Spirochäten nachzuweisen waren, wurden sie nach der Anreicherung mitunter zahlreich gefunden, selbst in einem Gummastückchen. In einigen Fällen wurde ferner beobachtet, daß beim Einbringen von normalen Gewebsstückchen neben die syphilitischen in den Kulturröhrchen binnen 15 Tagen einige Spirochäten von den syphilitischen Gewebsstückchen auf die „gesunden übergegangen waren", zweimal sogar sehr viele. Eine folgende Übertragung auf weitere Stückchen gelang dann aber nicht. — Bei diesen „Anreicherungen" wuchsen natürlich auch die Begleitbakterien mit, so daß von Reinkultur keine Rede sein konnte.

Wenn auch vielen Nachuntersuchern (Hoffmann, Noeggerath, Eitner u. a.) diese Anreicherung nicht gelang, so sind doch diese Beobachtungen zweifellos richtig gewesen. — Lebailly berichtete im Jahre 1908, daß er zwar keine Kultur von Material eines syphilitischen Fötus erhalten konnte, daß er aber in bei 37° in sterilisierten Röhren aufbewahrten Organteilen noch nach 15 Tagen lebende (in der Milz bedeutend vermehrte) Spirochäten fand.

Die Volpino-Fontana'schen Beobachtungen der Spirochäten-Vermehrung in Gewebsstückchen sind durch dieSchereschewsky's im Jahre 1909 bestätigt, die wenn auch keine Reinkultur, doch ein brauchbares, relativ einfaches Verfahren einer Kultur in vitro im bakteriologischen Sinne ergaben: nämlich eine Züchtung in Mischkultur zusammen mit den verschiedensten Bakterien durch fortlaufende Generationen nach Einbringen von syphilitischen Gewebsstückchen in halberstarrtes Pferdeserum.

Ehe ich auf dies Verfahren näher eingehe, seien noch einige andere frühere Kulturresultate kurz erwähnt. Leuriaux und Geets beschrieben im Jahre 1906 „Kulturen von *Treponema pallidum*", die sie angeblich nach Mischung von steril entnommener Cerebrospinalflüssigkeit von Sekundär-Syphilitischen mit gleichen Teilen neutraler Peptonbouillon erhalten hatten. Von 42 Lumbalpunktionen ergaben drei ein positives Kulturresultat derart, daß sich in den Kulturen zuerst Cytorrhyctes-ähnliche Körperchen bildeten, aus denen dann trypanosomaähnliche Stadien und schließlich die Treponemen hervorgegangen sein sollen. Auch in flüssigem Schweineserum soll die Kultur gelungen sein.

Andere nicht minder komplizierte Entwicklungsvorgänge bei gelungener „Kultivierung" sind im Jahre 1911 von Spengler berichtet und bereits auf S. 408 skizziert worden. Beide Publikationen können einer ernsthaften Kritik nicht standhalten. Das, was die beiden Autoren kultiviert haben, waren sicher keine Syphilistreponemen.

Anders verhält es sich mit den im J. 1907 von Levaditi u. Mac Intosh berichteten **Kollodiumsäckchen-Kulturen** (Intern. Hyg.-Kongreß Berlin). Die Kultur (Misch-

kultur) gelang in Kollodiumsäckchen, die mit 1/2 Stunde lang bei 60° erhitztem Menschenserum gefüllt waren. In diese wurde Reizserum eines Affenprimäraffektes mit wenigen Treponemen eingebracht. Die Säckchen wurden dann in die Affenbauchhöhle eingenäht. Der Affe war gleichzeitig mit Stückchen desselben Primäraffekts am oberen Lidrand geimpft worden. Als nach 23 Tagen am Augenlidrand ein positiver Impfeffekt festzustellen war, wurde auch der Säckcheninhalt untersucht: Neben Bakterien fanden sich zahlreiche, zum Teil in Knäueln liegende Spirochäten, von denen die meisten morphologisch der Pallida entsprachen. Affeninfektionen mit diesen Mischkulturen gelangen nicht, ebensowenig wie Kulturen in vitro; dagegen eine Weiterzüchtung in zahlreichen Passagen in vivo in der Affen- und später auch in der Kaninchenbauchhöhle. LEVADITI und MC INTOSH glaubten, eine avirulente Modifikation des Syphiliserregers gezüchtet zu haben. — MÜHLENS und LOEHE (1908) gelang diese Züchtung in einer Reihe von Kollodium- und Schilfrohrsäckchen-Kulturen in der Affenbauchhöhle nicht.

Im Jahre 1909 berichteten dann LEVADITI und STANESCO, daß ihnen die Mischkultur zweier Spirochätenarten aus der Genitalregion gelungen sei. 1. *Spirochaeta balanitidis*, dick, mit weiten abgeplatteten Windungen und einer Endgeißel, sehr lebhaft beweglich; 2. *Spirochaeta gracilis*, in Kultur der Pallida sehr ähnlich, leichter färbbar, etwas dicker als Pallida, Windungen ebenso eng und gleichmäßig; Enden in Fäden ausgezogen; Länge verschieden; Kulturen nicht tierpathogen. — Das angewendete Kulturverfahren war folgendes: Verimpfung der Begleitbakterien der Spirochäte in ein weites Reagenzglas mit Pferdeserum. Drei Tage nachher wird das Spirochätenmaterial in ein Kollodiumsäckchen mit Pferdeserum eingesät und auf den Boden des Reagenzglases versenkt. So können die Nährstoffe, die von den Begleitbakterien gebildet werden, in das Säckchen dringen und die Entwicklung der Spirochäten begünstigen. Ein zweites Züchtungsverfahren bestand darin, daß Spirochätenmaterial in bei 75° erstarrtes Pferde- oder Menschenserum (modif. Methode SCHERESCHEWSKY) eingesät wurde. So gelang es, zehn Generationen im Reagenzglas zu züchten.

Außer den bisher genannten Mischkulturen ist noch verschiedentlich über „Anreicherung" in Nährböden, in Kapillarröhrchen mit oder ohne Nährbodenzusatz oder im hängenden Tropfen berichtet worden. Diesen Versuchen kommt aber keine praktische Bedeutung zu.

Das Gelingen der ersten Spirochäten**rein**kultur überhaupt (*Spirochaeta dentium*, MÜHLENS), anaerob in erstarrtem Pferdeserumagar, hatte schon vermuten lassen, daß die Pallida auch in ähnlicher Weise anaerob wachsen würde. Viele Hunderte von MÜHLENS, zum Teil in Gemeinschaft mit LOEHE sowie auch von anderen in diesem Sinne in den Jahren 1906—1909 angestellte Kulturversuche hatten aber zunächst kein positives Ergebnis.

Vor der eben genannten Mitteilung von LEVADITI und STANESCO erschien im Mai 1909 SCHERESCHEWSKY's erste Publikation über seine **Mischkulturen**: „Die Züchtung der *Spirochaete pallida* gelingt bei 37° in drei bis fünf Tagen auf Pferdeserum, welches bei 60° bis zur gallertartigen Konsistenz gebracht wird und durch etwa dreitägiges Stehen im Thermostaten bei 37° einer teilweisen Autolyse unterworfen wird. Das Anlegen der Ausgangskultur geschieht am besten durch Versenken eines syphilitischen Papel- oder Kondylomfragments in ein mit Kork verschlossenes Zentrifugenglas, welches bis zu 2/3 mit dem besagten Medium aufgefüllt wird." SCHERESCHEWSKY hielt die kultivierten Spirochäten, die zusammen mit den verschiedensten Bakterien wuchsen, für identisch mit der Pallida. In seinen folgenden Mitteilungen wurden die ersten Resultate bestätigt und erweitert. Die Weiterzüchtung der Mischkulturen gelang in beliebigen Passagen, dagegen keine Reinkultur und auch keine positiven Tierimpfungen mit den gezüchteten Spirochäten. SCHERESCHEWSKY

hob noch u. a. hervor, daß man insbesondere in Originalkultur erster Tage fast ausnehmend den Typus der „Refringens“ vorfindet, während weitere Generationen sowie ältere Originalkulturen in unzweideutiger Weise eine Überzahl von Spirochäten enthalten, die allen für die *Spirochaete pallida* festgelegten Merkmalen entsprechen. Mühlens beobachtete häufig das umgekehrte Verhalten: in den ersten Generationen überwiegend „Pallidatyp“, von der 3.—5. Generation an „Refringenstyp“, abgesehen von den Kulturen, in denen der ursprüngliche Refringens- bzw. Pallidatyp bei den Weiterimpfungen unverändert blieb. — Mühlens glaubte nicht an die Umwandlung eines Typs in einen anderen, sondern nahm das ursprüngliche Vorhandensein beider und schließliches Eingehen des einen bzw. Überwuchern des anderen Typs an.

Für das Gelingen der Schereschewsky'schen Mischkulturen ist es sehr wesentlich, daß man exzidierte syphilitische Gewebsstückchen in das halbstarre Pferdeserum-Medium tief hineinbringt. Von Reizsaft allein, selbst wenn er sehr reich an Treponemen ist, gelingen die Kulturen nicht. Einige Tage nach der Beimpfung trübt sich der Nährboden, zunächst um das eingebrachte Gewebsstückchen herum und längs des Einführungsstiches, und nimmt einen schmutzig-grauen, mitunter grau-grünlichen Farbenton an; gleichzeitig beginnt sehr häufig eine stetig zunehmende Verflüssigung des Nährmediums, nach 10—14 Tagen ist nicht selten die ganze Kultur verflüssigt. Die spirochätenreichen Röhrchen zeigen einen charakteristischen widerlichen fauligen Geruch. „Der Kenner kann schon mit ziemlicher Sicherheit durch Beriechen der Kulturröhrchen feststellen, ob sie Spirochäten enthalten“ (Mühlens). Die Weiterimpfungen geschehen am besten von 8—10tägigen Kulturen, indem man mit einer sterilen ausgezogenen Kapillarpipette einige Tropfen verflüssigten Materials aus der Tiefe des Kulturröhrchens ansaugt und auf den Boden eines frischen Nährbodens bringt. Es ist zweckmäßig, stets mehrere Röhrchen zu beimpfen, da nicht immer alle gleichmäßig gut angehen. Die Mischkulturen enthalten nicht selten noch nach über 2—3 Wochen lebens- bzw. entwicklungsfähige Treponemen, wenngleich die aktive Beweglichkeit inzwischen häufig völlig aufgehört hat.

Während Arnheim (1909) bei seinen Nachprüfungen zwar einige Male Spirochäten in den Nährböden gefunden hatte, deren Vermehrung und Identität mit der Pallida er aber nicht für erwiesen hielt, konnte Mühlens (1909), wie schon angedeutet, die Schereschewsky'schen Beobachtungen bald nicht nur in großer Untersuchungsreihe bestätigen, sondern es gelang ihm auch aus einer seiner ersten gelungenen Mischkulturen eine **Reinkultur** von Spirochäten, die morphologisch von der Pallida nicht zu unterscheiden waren. Das Ausgangsmaterial stammte von einer Drüse eines Sekundär-Syphilitischen, in der durch Punktion das Vorhandensein einer in allen morphologischen Eigenschaften mit der Pallida absolut identischen Spirochäte nachgewiesen worden war. Stückchen der exzidierten Drüse wurden in erstarrtes Pferdeserum gebracht. In dem teilweise verflüssigten Nährboden entstand dann eine Mischkultur von Spirochäten und Kokken, bei der die Spirochäten bei weitem überwogen.

Offenbar war das Spirochätenwachstum durch die Kokkenanwesenheit begünstigt, die vielleicht bei der Exstirpation sekundär hinzugekommen waren. (Aus im Nährboden bakterienfrei gebliebenen Drüsenstückchen wurden nie Spirochäten gezüchtet.) Bei mehrmaligem Weiterzüchten gelang im Juni 1909 der Versuch der Isolierung der Spirochäten (unter Benutzung der Methode der Zahnspirochätenzüchtung) in der 4. Generation. Die Spirochäten ließen sich dann im hohen Stich in Pferdeserumagar bis auf den heutigen Tag weiterzüchten (gegenwärtig 102. Generation nach $2^1/_2$jähriger Weiterkultivierung).

Das Isolierungsverfahren ist kurz folgendes: Je 2 Teile neutralen oder schwach alkalischen verflüssigten, auf ca. 50° abgekühlten Agars werden mit 1 Teil inaktivierten klaren Pferdeserums durch Zusammengießen vermischt. Das Pferdeserum muß vor

dem Mischen einige Zeit (ca. 1/4 Stunde) bei 50—55° gehalten werden, damit möglichst die Luft ausgetrieben wird: Den gemischten Serumagar kühlt man auf 45° ab. Dann bringt man in ein Serumagarröhrchen mit einer langen Nadel 1 Öse der Mischkultur und schüttelt den Platindraht gut aus: mit derselben Nadel beimpft man alsdann in der bekannten Weise in fallenden Verdünnungen noch mehrere Röhrchen und läßt sie in kühlem Wasser schnell erstarren.

In einem auf solche Weise von der schon genannten Drüsen-Mischkultur beimpften Schüttelröhrchen wurden nach 5—7 Tagen einige feine hauchartige wolkige Kolonien ganz unten im Nährboden gefunden, die sich bei der Untersuchung als Treponemen ohne jede Beimengung herausstellten. Von den Kolonien gelang die Überimpfung in Rein-Stichkultur. Die Stichkultur bestand aus einer Kette von perlschnurartig mehr oder minder dicht aneinander gereihten Kolonien. Das Aussehen ist gut aus den photographischen Abbildungen (Tafel X Figg. 1—3) zu erkennen. Fig. 1 u. 3 stellen Stichkulturen dar, Fig. 2 eine Schüttelkultur von isoliert liegenden Kolonien. Die wiederholten Schüttelkulturen, in denen immer nur Spirochätenkolonien aufgingen, beweisen auch die sichere Reinkultur. Die Einzelkolonie beginnt 4—7, meist am 4.—5. Tage nach der Beimpfung zu wachsen, indem in dem hellgelben ganz durchsichtigen Pferdeserumagarröhrchen zunächst ganz winzige, bei durchfallendem Lichte kaum erkennbare weiße oder weißgelbliche Pünktchen erscheinen, die in den nächsten Tagen zu runden, anfangs zarten, später üppigen, aber durchscheinenden wolkigen Kolonien mit einem etwas dichteren Zentrum sich vergrößern. Das Wachstum geht strahlenförmig gleichmäßig nach der Peripherie in den Nährboden hinein vor sich, und zwar nur in den unteren zwei Dritteln des Nährbodens, also streng anaerob. Im Aussehen gleichen die jüngeren Kulturen denen von Schweinerotlauf. 8—12 Tage alte, dichte, bis 3/4 cm große wolkige Kolonien trüben häufig den ganzen Nährboden in ihrer Umgebung. Es sei nochmals besonders darauf hingewiesen, daß die jungen Kolonien in den Schüttelkulturen wegen ihrer Zartheit anfangs sehr leicht übersehen werden. So hatte Mühlens auch die ersten isolierten Kolonien anfangs bei durchfallendem Lichte nicht erkannt, obwohl sein Auge schon durch das Studium der ähnlichen Dentium-Kulturen geübt war. Das Röhrchen war bereits als negativ weggelegt; da wurde zufällig bei einem Blick auf das Kulturröhrchen gegen den dunklen Untergrund auf dem Tische bei auffallendem Lichte die wolkige Kolonie bemerkt.

Die Reinkulturen halten sich im Brutschrank bei 37° 8—14 Tage lang überimpfbar. Am besten überträgt man nach 6—8 Tagen die Passagen weiter. Dabei gehen aber lange nicht immer alle Kulturen an. Deshalb beimpft man zweckmäßig stets eine ganze Anzahl von Serumagarröhrchen. Um an das Material für die Weiterimpfung zu gelangen, muß man die unteren Enden der Reagenzgläser nach vorherigem Ritzen mit einem Schreibdiamanten vorsichtig abschlagen. Dann läßt man die Agarsäule, behutsam Verunreinigungen vermeidend, in eine sterile Petrischale hineingleiten. Mit einem sterilen Messer wird sie dem Stichkanal entlang aufgeschnitten, so daß die durchschnittenen Spirochätenkolonien frei zu liegen kommen. Die Überimpfungen werden dann mit einer langen nicht zu dicken Platinnadel in die fertigen, vorher 2 Tage lang bei 37° auf Sterilität kontrollierten Serumagarnährböden hinein in hohem Stich vorgenommen. Pferdeserumagarröhrchen, die vor der Impfung einige Tage im Brutschrank gestanden haben, eignen sich viel besser für die Weiterzüchtung als frisch bereitete Nährböden, die man unmittelbar beimpft.

Auffallend ist, daß es Mühlens selbst nur einmal bei tausenden von Isolierversuchen gelang, eine Reinkultur aus den auch ihm ziemlich häufig glückenden Mischkulturen in halbstarrem Pferdeserum herauszuzüchten, obwohl er sehr häufig solch letztere mit sehr zahlreichen Spirochäten vom Pallida- und auch vom Refringenstyp erhielt. Mehr Glück hatte W. H. Hoffmann, der im Berliner Institut für Infektions-

krankheiten die Kulturversuche fortsetzte. Er berichtete im Jahre 1910, daß ihm mehrere Isolierungen gelangen, auch aus syphilitischem Schanker vom Kaninchenhoden. Zunächst reicherte er auch stets auf dem Schereschewsky'schen Nährboden an. Dann machte er die Isolierungsversuche auf dem Mühlens'schen Pferdeserumagar. Dabei bewährte sich folgendes Verfahren: Macht man von einer Mischkultur einen Stich in fertigen Serumagar, dann zeigt sich nach 6—8 Tagen außer reichlichem Begleit-Bakterienwachstum häufig rund um dieses herum eine nach der Peripherie hin sich ausdehnende zarte Trübung. Vom Rande dieser Wolken (= Treponemenwachstum) konnte Hoffmann die Treponemen leichter isolieren als mittels Schüttelkultur. Nach einer privaten Mitteilung (Oktober 1911) gelangen ihm (Hoffmann) im ganzen 10 sichere Reinkulturen, zum Teil in mehreren Stämmen auf dem Serumagarnährboden, teils von Menschen-, teils von Kaninchensyphilis, allerdings bei im Laufe von 2 Jahren in mühseliger Arbeit vorgenommenen „vielen Tausenden" Kultur- und Isolierungsversuchen.[1]) Damit ist sicher bestätigt, daß die Reinkultur von Treponemen des Pallidatyps auf dem Pferdeserumagar nach vorheriger Anreicherung in halbstarrem Pferdeserum gelingt.

Mühlens und W. H. Hoffmann haben ihre Resultate ausführlich veröffentlicht (Klin. Jahrbuch 1910 Bd. 23 bzw. Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Krankh. 1910 Bd. 58). Die genaueren Details sind daselbst nachzulesen. Hier mögen einige weitere zusammenfassende Angaben genügen, zunächst noch einige Charakteristika der Kulturen: Die aufgeschnittenen Kulturen zeichnen sich durch einen intensiven Geruch aus, der wahrscheinlich durch eine Zersetzung des Serums zustande kommt. Hoffmann vermißte diesen Geruch bei Passage-Kulturen in reinem Agar ohne Serumzusatz, die ihm auch mitunter gelangen. Auf die Dauer ließen sich jedoch die Treponemenstämme in reinem Agar nicht halten, so daß Hoffmann nach Ausprobung der verschiedensten Modifikationen zu dem Resultat kam: „Der Serumagar nach Mühlens hat sich auch mir immer wieder als der brauchbarste Nährboden bewiesen, auf dem die Spirochäten sich mit ziemlicher Sicherheit weiterzüchten ließen." In neuerer Zeit sah Mühlens (noch nicht veröffentlicht) ein bedeutend besseres, schnelleres und üppigeres Wachstum der Reinkulturen, wenn er statt 2 Teilen Agar mit 1 Teil Serum gleiche Mengen Agar und Serum mischte oder gar 2 Teile Serum mit 1 Teil Agar. Vielleicht läßt sich auf diese Weise auch eine bessere Isolierung erreichen. In halbstarrem Serum nach Schereschewsky wachsen die Reinkulturen nicht weiter. Auch auf Platten unter anaerobem Abschluß sah Mühlens nie Wachstum, Hoffmann einmal eine Kolonie.

Statt Pferdeserum kann auch inaktiviertes Kaninchen-, Affen- oder Menschenserum sowie Ascites als Nährbodenzusatz benutzt werden. In reiner Gelatine wurde bisher kein Wachstum erzielt. In flüssigen Nährböden: Bouillon, Serumbouillon, Ascitesbouillon, gelang die Kultur selbst unter strenger Anaerobiose (nach Lentz und anderen Verfahren) zunächst nicht. Dagegen erzielte Mühlens eine Passage-Kultur, wenn er in Serumbouillon Klümpchen von zerstückeltem, erstarrtem Pferdeserum steril auf den Boden brachte und unter Sauerstoffabschluß züchtete. Ferner gelang zufällig die Kultivierung in einem Serumbouillonröhrchen, in das als accidentelle Verunreinigung ein an der Oberfläche als dichte Haut wachsender streng aerober Saprophyt hineingelangt war. Mit diesem „Zusatzbakterium" (Mühlens), dessen Eigenschaften von Hoffmann genauer beschrieben sind, konnten die Treponemen ohne jeden Sauerstoffabschluß bis heute in über 80 Generationen in Serumbouillon (1:2) weiterge-

[1]) Auch Shmamine (Breslau) konnte — außer der Dentium — auch anscheinend eine Reinkultur vom Pallidatyp erhalten (Private Mitteilung). Er weist auch auf die enormen Schwierigkeiten der Isolierung hin. S. auch Centralbl. f. Bakt. Orig. 1911. Bd. 61.

züchtet werden. Offenbar bereiten die Zusatzbakterien den Nährboden in der den Parasiten zusagenden Weise vor. — W. H. Hoffmann berichtet, daß er auch Spirochätenwachstum in Bouillon mit Rinder-, Pferde-, Hammel- oder Kaninchenblutzusatz sah. In jungen flüssigen Kulturen wachsen die Treponemen teils in langen spiraligen Fäden, teils bilden sich auch schnell kleine Teilprodukte; in älteren sieht man auch häufig mehr oder minder große Parasitenknäuel. Die Treponemen zeigen am besten in flüssigen Kulturen die lebhaften, für die Pallida typischen Rotations- und Knickbewegungen. Aber auch junge Agarkultur-Parasiten sind gut beweglich. In 7—10 Tage alten und älteren Kulturen finden sich meist nur noch wenige aktiv bewegliche Treponemen. Hoffmann glaubt einmal im Dunkelfeld eine schnelle Längsteilung gesehen zu haben. Im übrigen konnten sichere Beobachtungen über die Art der Teilungsvorgänge nicht gemacht werden. Die Teilung scheint ganz außerordentlich schnell zu erfolgen. Mühlens und W. H. Hoffmann geben übereinstimmend an, daß ihre Kulturspirochäten in ihrem Grundtyp von der Pallida nicht zu unterscheiden sind, sowohl bei Lebenduntersuchung als auch in Ausstrichen. Das ist auch von den vielen Syphilidologen, Zoologen und Bakteriologen, denen die Kulturtreponemen demonstriert wurden, bestätigt. Erwähnt sei nur noch, daß die Kulturspirochäten sich sehr widerstandsfähig gegen Antiformin, selbst in 50prozentiger Lösung erwiesen (Hoffmann). Hoffmann glaubt, daß diese sonst den Spirochäten nicht zukommende Eigenschaft durch die lange fortgesetzte Züchtung auf dem stark alkalischen Nährboden gewonnen sei.

Zugunsten der Pallidanatur der Mühlens- und der Hoffmann'schen Reinkulturtreponemen scheinen außer der Morphologie noch einige andere Feststellungen zu sprechen. Aus den Kulturen ließen sich Extrakte herstellen, die mit Syphilitiker-Serum in derselben Weise Komplementbindung ergaben wie syphilitische Leberextrakte als Antigen. (Kontrollen mit normalem Serum negativ.) Mühlens und Hoffmann begannen (1909) gemeinsam eine große Versuchsreihe derartiger Prüfungen, die von Hoffmann zu Ende geführt wurden und die genannten gleichmäßigen Ergebnisse zeitigten. Auch Schereschewsky hatte vorher bei Benutzung eines Extraktes aus seinen Mischkulturen als Antigen gleiche Resultate, sowie aber auch mit einem Antigen, hergestellt aus nichtluetischen Kulturen; ähnlich so Mühlens auch zweimal mit einem Extrakt aus Kontroll-Bakterienkulturen. Daher beweisen diese Versuche nichts Definitives. Mühlens konnte weiterhin (zum Teil in Gemeinschaft mit Hoffmann) zeigen, daß 4 niedere Affen, deren Serum vorher keine Komplementbindung mit Lues-Leberextrakten gegeben hatte, nach Einspritzungen von Kulturtreponemen, deutliche positive Wassermann'sche Reaktion zeigten, bei einigen sogar mit den wiederholten Einspritzungen quantitativ zunehmend. Aber auch diese Befunde können noch nicht zwingend die Pallidanatur beweisen.

Zur sicheren Lösung der Frage, ob die beschriebenen reingezüchteten Treponemen wirklich identisch mit dem *Trep. pallidum* seien, bedurfte es strenggenommen des positiven **Tierversuchs** mit der Reinkultur. Allerdings wäre ja auch eine Virulenzabnahme außerhalb des menschlichen Körpers, wie wir sie von Rekurrens-Spirochäten und Trypanosomen kennen, denkbar. Für eine solche Virulenzabnahme schienen Versuche von W. H. Hoffmann zu sprechen. Er konnte mit Stückchen von Menschen- und Kaninchenprimäraffekten, die er 1—7 Tage bei 37° in Schereschewsky'schem Nährboden aufbewahrt hatte, nicht mehr positiv impfen. — Während Mühlens mit Reinkulturen in großer Versuchsreihe selbst bei kutaner und Hodenimpfung eines Schimpansen nur negative Resultate hatte, berichtete W. H. Hoffmann im August 1911, daß ihm die Erzeugung der typischen Kaninchenhodenaffektion mit der Reinkultur gelungen sei, wenn er große Mengen Kulturmaterial (mehrere ccm Serum-Agarkultur-Aufschwemmung) einspritzte. Nach brieflicher Mitteilung (Publikation folgt) sind ihm derartige positive Impfungen wiederholt gelungen, ebenso wie die Rückzüchtung der

Treponemen aus dem treponemareichen Impfeffekt, dessen syphilitische Natur allerdings in der Hoffmann'schen Publikation nicht (durch pathologisch-anatomische Untersuchung bzw. Affenimpfung) vollkommen erhärtet ist. W. H. Hoffmann hatte auch mit dem alten Mühlens'schen Stamm (in 77. Generation) einen positiven Impfeffekt erzielt und kam auf Grund seiner Versuche zu folgendem Resultat: „Durch diese Befunde ist der Beweis erbracht, daß die von mir und Mühlens aus menschlichen Schankern rein gezüchteten Spirochäten als die *Spirochaete pallida* anzusehen sind." (Zu bemerken ist noch dazu, daß Mühlens seinen Stamm aus einer Drüse gezüchtet hatte.) Die früheren Fehlerfolge bei den Impfungen führt Hoffmann auf Verwendung zu geringer Kultur-Materialmengen zurück.

Bestätigt es sich histologisch sowie auch durch das eventuelle Auftreten von generalisierter Kaninchensyphilis oder Rückimpfung von den mit Kultur geimpften Kaninchen auf Affen, daß die von W. H. Hoffmann mit Reinkultur erzeugten Kaninchenhodenaffektionen sicher syphilitisch sind, dann hat Hoffmann mit der Übertragung von rein gezüchteten Spirochäten aus menschlicher Syphilis die Beweiskette für die ätiologische Bedeutung der Pallida geschlossen. Eine Rückimpfung auf den Menschen — der eigentliche Schlußstein —, dürfte sich dann erübrigen.

Schereschewsky hatte von seinen Mischkultur-Spirochäten berichtet: „Die Kulturspirochäten sind absolut nicht tierpathogen." Daß aber doch die Erzeugung von Kaninchensyphilis mit Treponema-Mischkulturen tatsächlich möglich ist, hatten (schon vor Hoffmann) die Impfungen von Bruckner und Galasesco (1910), sowie besonders die von Sowade (1911) gezeigt. Die ersteren hatten von einer 2. Passage einer aus einem Vulva-Syphilid erhaltenen Spirochäten-Mischkultur 1 ccm in den Kaninchenhoden eingespritzt. Nach 2 Monaten konnten in dem angeschwollenen Hoden typisch geformte und färbbare Treponemen durch Punktion nachgewiesen werden. — Sowade injizierte Mischkulturmaterial nach der Methode von Uhlenhuth und Mulzer intrakardial, zunächst von einer 7 Tage alten, von breiten Kondylomen stammenden Kultur 4 ccm. Nach 3 Monaten zeigte sich an der Innenfläche beider Ohren ein klein-papulöses Exanthem. *Spirochaeta pallida* +. Nach 18 Tagen Vermehrung der papulösen Effloreszenzen, schuppende Papeln auch auf der Außenseite der Ohren, auf dem Nacken Haarausfall, ulzero-serpiginöser Herd, papulo-pustulöse Effloreszenzen auf dem ganzen Rücken; *Spirochaeta pallida* +. Der Versuch war insofern nicht einwandfrei, als Ausgangsmaterial mit übergeimpft sein konnte. — Jedoch gelangen Sowade auch weitere positive Kaninchenimpfungen, auch nach intraarterieller Injektion, selbst mit späteren Generationen. Bei einem Kaninchen wurde u. a. 51 Tage nach der intrakardialen Impfung eine fibrinöse Iritis (erster Fall) beobachtet, die Igersheimer für eine echte luetische Iritis hielt, auf endogenem Wege durch Kulturspirochäten entstanden. — Ferner demonstrierte Sowade am 17. Mai 1911 im Ärzteverein in Halle ein mit intrakardialer Injektion von 2 ccm einer 103 Tage alten sehr spirochätenreichen 2. Kulturgeneration erfolgreich geimpftes Kaninchen. Nach 19 Tagen waren drei ulzeröse Syphilide der Bauchhaut entstanden, in deren Randfiltraten spärliche Spirochäten gefunden wurden! Daß es sich in diesem Falle tatsächlich um ein syphilitisches Produkt handelte, hätte noch eingehender durch Tierexperimente und histologische Untersuchung bekräftigt werden dürfen.

Zwei unter dem gleichen vielversprechenden Titel der Arbeiten von Sowade und W. H. Hoffmann publizierte Mitteilungen Schereschewsky's bringen weiter nichts als eine selbstverständliche Kritik an den Impfresultaten der Genannten. Dabei dürfte zugunsten des ersten Sowade'schen Versuches mit der 7tägigen Mischkultur erster Generation zu weit gegangen sein, wenn Schereschewsky meint, daß „die gelungene Infektion à conto der gewachsenen Spirochäten vor sich gegangen" sei.

Ganz neuerdings berichtet Noguchi (Juli 1911) über gelungene **Reinkultur**

von Treponemen aus Kaninchenpassagestämmen (ob von Reizserum, ist nicht gesagt) und Erzeugung von Kaninchenhodensyphilis mit der Kultur. Nach erfolgloser Prüfung der verschiedensten Nährböden fand er als „einzigen Nährboden, der sich meistens als geeignet erwies“, ein Serumwasser (1 Teil Pferde-, Kaninchen- oder Schafserum und 3 Teile destilliertes Wasser) mit Zusatz von ziemlich großen Stücken Niere oder Hoden von normalen Kaninchen.

Nährbodenbereitung: 20 cm hohe und 1,5 cm weite Reagenzgläser werden mit 16 Teilen Serumwasser gefüllt. Fraktionierte Sterilisation bei 100° C an 3 Tagen je 15 Minuten lang. Alsdann Hinzufügen eines kleinen Stückes frisch entnommenen sterilen Gewebes (Hoden oder Niere). Zweitägige Prüfung bei 37° auf Sterilität. Aufgießen von sterilem Paraffinöl zwecks Luftabschluß. Beimpfung. Züchtung unter strengster Anaerobiose. Sauerstoffentfernung mittels KIPP'schen Apparates. Dann Einstellen der Kulturröhrchen unter eine Anaerobiose-Glocke, in der sich eine starke Pyrogallollösung befindet. Apparat wird dann geschlossen und nach genügender Ansaugung (Erzeugung von Vakuum) wird konzentrierte sauerstofffreie Kalilauge zugesetzt. Nochmalige Durchleitung von Wasserstoff. Verschluß unter negativem Druck. Einstellen im Brutschrank bei 35—37°.

Die Kultur soll in den ersten zwei Wochen nicht unterbrochen werden. Nach „unzähligen Serien“ von vergeblichen Züchtungsversuchen erhielt N. im Oktober 1910 den ersten Stamm, im Anschluß daran noch fünf weitere. Außer in einem Falle wuchsen die Treponemen zunächst zusammen mit Bakterien. Auch die Isolierung machte wieder große Schwierigkeiten. Sie gelang schließlich mit zwei Methoden: 1. mit der von W. H. HOFFMANN angegebenen (S. 416) in vier Fällen: Einstich der Mischkultur in Serumagar-Nährboden (auf dessen Grund sich außerdem nach NOGUCHI ein Gewebsstückchen befand). Von dem nach der Peripherie hin fortschreitenden wolkigen Treponemen-Wachstum gelang die Reinkultur 2. mittels Durchwachsenlassens durch Berkefeldfilter. Berkefeldfilter ließen die Pallida unter Anwendung von Luftdruck nicht passieren. Aber nach 5 Tagen wuchs sie durch, während die Bakterien zurückgehalten wurden. „Selbstverständlich ist nicht jede Kerze dazu geeignet.“ Mit anderen Worten: Dies Durchwachsen trat nur selten auf. Die Reinkulturen gediehen alsdann in Serumwasser und Serumagar, aber nur dann, wenn sich am Boden lebendes Gewebe befand. Im übrigen entspricht das von NOGUCHI abgebildete Photogramm der Reinkultur genau den Bildern der anaeroben wolkigen Kulturen von MÜHLENS (Tafel X Figg. 1—3) und HOFFMANN (Beschreibung S. 415 ff.).

Bezüglich der Morphologie heißt es: „The morphology of the pallida cultivated in solid media is quite typical, and it is difficult to distinguish it from specimens just taken from human or animal lesions.“

Sehr bemerkenswert ist, daß NOGUCHI mit seinen von Kaninchenhodenaffektion in Serumwasser mit Gewebsstückchen gezüchteten Treponema-Reinkulturen die typische Hoden-Affektion wieder bei Kaninchen erzeugen und in ihr zahlreiche Parasiten nachweisen konnte, und zwar gelang dies bisher von zwei daraufhin untersuchten Stämmen, von denen der eine mittels Hindurchwachsens durch Berkefeldfilter, der andere mittels der Serum-Agar-Stich-Methode nach HOFFMANN „gereinigt“ war. Aber auch NOGUCHI läßt die Rückimpfung auf Affen vermissen.

NOGUCHI ist der Ansicht, daß seine Kulturen sich von denen von MÜHLENS und HOFFMANN in einigen (inzwischen zum Teil hinfällig gewordenen) Punkten unterscheiden, und zwar außer durch die Virulenz noch durch das Fehlen des penetranten Geruches und dadurch, daß sie nicht in Serumbouillon und Serumagar ohne Gewebsstückchenzusatz und auch nicht in gewöhnlichem Agar wachsen; ferner sei die Beweglichkeit auch nach mehreren Wochen „almost undiminished“.

Dazu ist zu bemerken, daß die MÜHLENS' und HOFFMANN'schen Kulturen auch

nicht ohne weiteres in Serumbouillon und gewöhnlichem Agar wachsen. In Serumbouillon gedeihen sie nur unter anaeroben Verhältnissen, wenn man geronnene Serumklümpchen zusetzt, ferner aerob nur zusammen mit dem Zusatzbakterium (Mühlens), das offenbar die günstigen Entwicklungsbedingungen in dem Nährboden, insbesondere durch Sauerstoffentziehung schafft (S. 416). Das Wachstum in gewöhnlichem Agar ist von Mühlens nicht beobachtet und von Hoffmann als gelegentliche Möglichkeit bei Passagekulturen erwähnt, also offenbar eine Anpassungserscheinung. Derartige Adaptierungen an Nährböden — in welchen gewisse Mikroorganismen in ersten Generationen absolut nicht gedeihen — in späteren Generationen ist keine ungewöhnliche Erscheinung. Hoffmann sagt übrigens ausdrücklich: „Dabei (scil. bei der Züchtung in reinem Agar) scheint jedoch keine weitere Anpassung an den Agar stattzufinden, denn bei wiederholten Übertragungen ließen sich diese Spirochätenstämme im Agar auf die Dauer meist nicht halten." Auch gibt Hoffmann an, daß bei der Passagekultur in reinem Agar der faulige Geruch fehlte. Also auch diese Eigenschaft scheint keine durchaus konstante für die Reinkultur selbst zu sein und ist, wie auch schon Mühlens hervorhob, offenbar durch Zersetzung des Pferdeserums bedingt. — Schließlich spricht die anscheinende längere Beweglichkeit der Noguchi'schen Kulturen auch nicht gegen eine Identität, eher für günstigere Entwicklungsbedingungen auf dem Noguchi'schen Nährboden mit Gewebszusatz. Es ist keineswegs unmöglich, daß die Noguchi'schen Kulturen in späteren Generationen sich auch an reinen Serumagar (ohne Gewebe) adaptieren. Ehe diese Möglichkeit ausgeschlossen wird, wären negative Resultate mit ganzen Serien Beimpfungen von Serum-Agar-Röhrchen mit jungen Kulturen notwendig.

Viele Gründe, vor allem das charakteristische Aussehen der Treponemakolonien und die Morphologie sprechen für die Identität der Kulturen von Noguchi mit denen von Mühlens und Hoffmann, zumal durch die unmittelbar nach der Noguchi'schen ersten kurzen Mitteilung veröffentlichten positiven Tierversuche Hoffmann's auch der Einwand der Nichtpathogenität wegzufallen scheint.

Die nächste Zeit wird volle Aufklärung über diese strittigen Punkte bringen. Jedenfalls ist als erfreuliches wichtiges Ergebnis der unendlich zahlreichen mühevollen Züchtungsversuche festzuhalten, daß zunächst eine Mischkultur von Treponemen des Pallidatypus nach dem Verfahren von Schereschewsky verhältnismäßig leicht gelingt. Ferner besteht kaum Zweifel an dem Gelingen der Reinkultur — allerdings vorläufig noch unter sehr schwierigen und zeitraubenden Züchtungsmethoden — nach der Methode von Mühlens, die von Hoffmann modifiziert wurde, sowie auch nach dem von Noguchi angegebenen Verfahren.

Betont sei, daß die Hoffmann'schen Kaninchenhodenimpfungen mit Reinkulturen vollkommen unabhängig von Noguchi und ungefähr gleichzeitig gemacht wurden, wenn auch die Publikation einige Wochen später erfolgte.

Grouven (1911) berichtete kürzlich über Vakzinationsversuche mit Vakzin aus den Sowade'schen Mischkulturen (S. 418) bei Kaninchen. Es schien ein eklatanter Erfolg bei den beiden behandelten sekundärsyphilitischen Kaninchen festzustehen. Weitere Resultate sind abzuwarten.

E. Experimentelle Syphilis.

I. Übertragung des *Treponema pallidum* auf Affen.

Geschichtliches.

Schon vor längerer Zeit wurden Übertragungsversuche des Syphilisvirus auf niedere Affen vorgenommen, die auch zum Teil zu Erscheinungen: Primäraffekt,

papulösen Impfeffekten und selbst papulösen Sekundäreruptionen geführt haben sollten (KLEBS (1879), NEUMANN (1882) MARTINEAU und HAMONIC (1883), SPERK (1886/88), NICOLLE (1902). Wenn es auch jetzt nicht mehr zweifelhaft erscheint, daß die Genannten bereits bei niederen Affen syphilitische Erscheinungen gesehen hatten, so wurden die Befunde doch früher wenig beachtet, hauptsächlich wohl, weil damals noch nicht der strikte Beweis der Syphilisnatur durch den Erregernachweis möglich war. Als einwandfreie Feststellung der Affenempfänglichkeit für Syphilis erregten erst die Übertragungen auf den Schimpansen von METSCHNIKOFF und ROUX im Jahre 1903 berechtigtes Aufsehen. Sie zeigten, daß beim Schimpansen nicht nur eine konstitutionelle Syphilis in ähnlicher Weise wie beim Menschen zu erzeugen war, sondern daß sich diese auch durch Verimpfung von Affenprimäraffekt und von Papeln leicht weiter übertragen ließ. Der erste Schimpanse war mit Schankersekret am Praeputium clitoridis geimpft worden; etwa 4 Wochen später zeigten sich die ersten Erscheinungen in Form eines kleinen Bläschens, aus dem dann bald ein typisches induriertes Geschwür hervorging; gleichzeitig schwollen die regionären Lymphdrüsen an, und etwa 1 Monat nach dem Auftreten der ersten Erscheinungen an der Impfstelle ließen sich auf der Haut von Bauch, Rücken und Oberschenkel deutliche papulöse Effloreszenzen konstatieren; ferner schwollen sämtliche Lymphdrüsen und die Milz, so daß an der Allgemeininfektion kein Zweifel mehr bestand, wenn auch der Nachweis des damals noch nicht bekannten Syphiliserregers noch fehlte. Hier sei aber erwähnt, daß gleich nach Entdeckung der Pallida METSCHNIKOFF und ROUX diese auch sofort bei der Affensyphilis nachweisen konnten (Mai 1905). In Deutschland konnten die Infektionen von anthropomorphen Affen bald von LASSAR und NEISSER bestätigt werden. — Inzwischen waren aber auch bereits (fast gleichzeitig mit den Befunden von METSCHNIKOFF und ROUX veröffentlicht) von Ch. NICOLLE ebenfalls im Institut Pasteur im Anschluß an frühere Versuche wieder erfolgreiche Überimpfungen auf niedere Affen (Macacus sinicus) vorgenommen worden. Bald kam nun, insbesondere nach der Entdeckung SCHAUDINN's, neues Leben in die experimentelle Syphilisforschung, namentlich zunächst durch die verdienstvollen Untersuchungen von METSCHNIKOFF und ROUX, NEISSER, BAERMANN und HALBERSTÄDTER, FINGER und LANDSTEINER, ZABOLOTNY, E. HOFFMANN u. a. Aus zahlreichen übereinstimmenden Beobachtungen ergab sich, daß selbst die niederen Affen nicht nur für die syphilitischen Lokalinfektionen an der Impfstelle sehr empfänglich sind, sondern daß es auch zu einer Verbreitung des Virus im Körper kommt, wenn auch nicht in demselben Maße wie bei Schimpansen. Ferner wurde namentlich durch NEISSER festgestellt, daß nach dem spontanen Ausheilen der Lokalerkrankungen bei anscheinend völliger Gesundheit noch nach Jahren vollvirulente Infektionserreger in inneren Organen durch positive Weiterimpfung sich nachweisen lassen. Damit ließen sich die nach längerer Zeit auftretenden Sekundärerkrankungen erklären.

Hier sollen nur die für das Studium des Verhaltens des *Treponema pallidum* im Affenkörper wichtigsten Daten der experimentellen Affensyphilis kurz mitgeteilt werden. Die Ergebnisse der tierexperimentellen Forschungen für die Diagnose und Therapie der Syphilis sowie für das Studium insbesondere der Immunitätsverhältnisse sind an anderer Stelle erörtert.

Impfmaterial. Bei geeignetem frischem Material und sorgfältiger zweckmäßiger Impftechnik gelingt mit Material von erworbener Syphilis selbst die Infektion von niederen Affen mit fast absoluter Sicherheit. Zweifellos hängt der Impferfolg von dem Treponemengehalt des Impfmaterials ab: Je frischer und florider es ist, desto sicherer ist der Effekt. Gutes Impfmaterial von Menschen bilden: breite Kondylome und nässende Papeln sowie frische Primäraffekte und junge trockene Papeln. Auch frische primäre Drüsen geben häufig positive Impfresultate, insbesondere Material von den peripheren Drüsenpartien, Punktionssaft (HOFFMANN) oder auch exstirpierte Drüsen-

schlüsse. Mit sekundären Drüsen sind ebenfalls — wenn auch weniger häufig — positive Impferfolge erzielt worden. — Besonders wichtig waren die positiven Resultate, zum Teil mit Treponemabefund, nach Impfung mit tertiärsyphilitischen Produkten, namentlich der Randpartien von Gummen (Finger-Landsteiner, E. Hoffmann, Neisser, Buschke und Fischer, Kraysztalowicz und Siedlecki). Sie bewiesen das Vorhandensein von vollvirulentem Virus und somit auch die Infektiösität der tertiären Erscheinungen, im Hoffmann'schen Falle selbst 24 Jahre post infectionem. Die mit tertiärem Material erzeugten Impfeffekte und der Verlauf der Affensyphilis unterschieden sich nicht von den Erscheinungen nach Impfung mit Produkten von primärer und sekundärer Syphilis.

Auch mit Material von maligner Lues sind einige positive Impfresultate berichtet [Buschke und Fischer (1906 und 1911) (siehe auch S. 368), Neisser u. a.], ohne daß im Impfmaterial Treponemen nachzuweisen waren. Die Impfeffekte unterschieden sich nicht oder wenig von denen mit anderen Produkten; mitunter traten serpiginöse hartnäckige Geschwüre auf. Tomaschewski (1911) konnte nach Impfung mit anscheinend parasitenfreiem Material dreimal in den Impfeffekten bei niederen Affen die Pallida im Ausstrich und Dunkelfeld nachweisen, einmal „ziemlich zahlreich" und einmal sogar „zahlreich".

E. Hoffmann ist mehrmals eine positive Blutverimpfung von $1^1/_2$—6 Monate alter Syphilis mit Nachweis der Treponemen beim Affen gelungen. Solche Blutimpfungen hafteten nach Hoffmann aber nur dann, wenn größere Mengen (2—5 ccm) und zwar aus einer gestauten Vene sehr schnell in tiefe Skarifikationsstellen eingeimpft wurden. Andere Forscher hatten weniger Glück mit den Blutüberimpfungen (Neisser, Finger und Landsteiner); auch hatte Neisser mit Serumimpfungen nur negative Resultate.

Finger und Landsteiner haben zweimal mit Sperma positives Impfresultat erzielt (Neisser und E. Hoffmann dagegen nicht), einmal mit normalem Sperma eines floriden Luetikers (4 Monate post infectionem) und einmal mit Sperma eines Kranken mit interstitieller Orchitis bei 3 Jahre alter Lues ohne Spermatozoengehalt. Demnach schienen nicht die Spermatozoen die Träger des Virus zu sein.

E. Hoffmann hatte einen positiven Impferfolg mit Spinalflüssigkeit von einem Kranken mit papulöser Syphilis. Andere ähnliche Versuche von Hoffmann, Thibierge und Ravaut sowie Neisser fielen negativ aus.

Während noch keine Impfversuche mit Organen von erworbener Lues vorzuliegen scheinen, konnten von vielen Experimentatoren mit fast sämtlichen Organen von hereditärer Syphilis positive Resultate, meist prompt und deutlich erzielt werden. Selbst Corpussekret erwies sich als infektiös. — Positive Impfungen mit Milch sind noch nicht bekannt.

Außer mit menschlichen Syphilisprodukten sind auch Weiterimpfungen mit den primären und sekundären Produkten der Affensyphilis, selbst mit anscheinend normalen Organen, namentlich Milz-Knochenmarkbrei gelungen (Siegel, nicht allgemein anerkannt, Neisser u. a.). Insbesondere zeigte Neisser, daß zerriebenes Hodengewebe ganz auffallend oft verimpfbares Virus enthielt. — Ferner ist das syphilitische Virus in zahlreichen Passagen in Affen weiter gezüchtet. Die dabei von Metschnikoff und Roux beobachtete Virulenzabnahme wird von anderer Seite (u. a. Neisser) bestritten. Schließlich konnten auch mit syphilitischen Produkten von Kaninchen bei Affen positive Impferfolge erzielt werden (z. B. Passage: von menschlicher latenter Leistendrüse — Kaninchenkornea — Affenaugenbraue (Mühlens)).

Der Effekt einer Tierimpfung richtet sich außer nach dem Gehalt des Impfmaterials an lebenden virulenten Treponemen auch nach der Tierart sowie der Impftechnik. Keineswegs sind alle Affenarten gleichmäßig empfänglich. Neisser stellt folgende Reihenfolge der Empfänglichkeit auf: Schimpanse, Gibbon, Orang-Utan, Cynoce-

phalus babuin, Cynoc. sphinx, Cynoc. hamadryas, Cercopithecus fuliginosus, Macacus niger, Mac. nemestrinus, Mac. cynomolgus, Mac. sinicus, Mac. speciosus und Mac. rhesus. Hinzuzufügen wäre noch, daß nach Hoffmann und Lohe auch die Hapale-Äffchen (eine Halbaffenart) sehr empfänglich sind. Bei allen Affenversuchen ist im Auge zu behalten, daß niedere Affen sich nicht mit absoluter Sicherheit stets infizieren lassen, während anthropoide Affen mit ziemlicher Regelmäßigkeit angehen. Während es ferner bei den höheren Affen zu deutlichen sekundären Symptomen kommt, sind solche bei niederen Affen selten beobachtet. Ein weiterer Unterschied in der Empfänglichkeit zeigt sich auch noch darin, daß sich die niederen Affen nur an den Augenbrauen, an den Augenlidern und am Penis einigermaßen sicher und typisch infizieren lassen, während bei höheren Affen die Infektion an beliebigen Körperstellen gelingt.

Die **Impftechnik** ist für den Erfolg von ganz besonderer Bedeutung. Als Impfmaterial nimmt man entweder Reizserum, Punktionssaft oder Organ- bzw. Papel- usw.-Brei. An den Impfstellen, also bei den am häufigsten verwendeten niederen Affen an den Augenbrauen, muß reichlich skarifiziert werden, aber möglichst unter Vermeiden stärkerer Blutung. Quetschwunden durch starke Klauenpinzetten (E. Hoffmann), auch in der Augenlidhaut, sowie Hauttaschen unter der Epidermis eignen sich besonders gut zur Aufnahme der Pallida. Das möglichst frische Impfmaterial muß dann gründlich längere Zeit (5—15 Minuten lang) eingerieben werden; auch dabei sollen stärkere Blutungen, die die eingebrachten Treponemen wieder herausschaffen können, vermieden werden. Hoffmann befördert das Einbringen des Materials auch noch durch Anwendung der Klauenpinzette während der Einreibungen. — Nach der Impfung müssen die Tiere noch 10—15 Minuten festgehalten werden, damit das Material eintrocknet und nicht abgewischt wird. Viele Experimentatoren chloroformieren die Affen (die Chloroform relativ gut vertragen), um ruhiger und sicherer arbeiten zu können.

Außer durch solche kutane Impfung ist allerdings viel seltener eine subkutane Infektion möglich (wie zuerst Siegel angab, ohne den Pallidanachweis zu erbringen), nach Neisser „nur unter ganz besonderen Umständen", namentlich mit reinem Material. [S. auch Baermann 1911, S. 425.] Leichter gelingt die intravenöse Infektion, während Neisser's 15 intraperitoneale Infektionsversuche negativ ausgefallen waren. Vielleicht spielen bei der Verhinderung dieser und der meisten subkutanen Infektionen die Phagozyten eine wesentliche Rolle (Levaditi u. a.). Ähnlich wie Kaninchen (s. später) lassen sich Affen auch unschwer im Hoden durch direkte Einreibung in den gespaltenen Hoden (Neisser) oder durch Einspritzung sowie auch intrakorneal infizieren. Durch die Kornealimpfungen ist bewiesen, daß die Treponemen zwischen den Epithelschichten zu haften vermögen.

Von besonderem Interesse ist die Frage, ob eine Infektion möglich ist, ohne daß Blutgefäße eröffnet werden. Mit anderen Worten: Kann die Pallida durch gesunde unverletzte Haut oder Schleimhaut in den Körper gelangen, eventuell ohne primäre lokale Erscheinung? Neisser neigt zu der Ansicht, daß beim Menschen auf kutanem Wege Infektionen ohne makro-, ja selbst mikroskopische Andeutung eines primären Affektes möglich seien. „Man wird in solchen Fällen an eine (allerdings weniger wahrscheinliche) rein subkutane (mit Spirochätenverschleppung in die Lymphbahnen) oder an rein intravaskuläre Blutinfektion denken müssen, ohne jegliche Spirochätendeponierung loco infectionis oder mit sofortiger Zerstörung der etwa ins subkutane Gewebe deponierten Spirochäten."

Während Neisser bei einfachem Einreiben von virulentem Material auf die unverletzte Oberfläche der Tonsillen, Nasenschleimhaut und Conjunctiva von Affen keinen positiven Impferfolg sah, hatten energische Einreibungen des Impfmaterials auf die unverletzte, nur vorsichtig rasierte Augenbraue positives Resultat. Dabei ist jedoch

nicht sicher, daß das Epithel vollkommen unverletzt geblieben und ob die Treponemen wirklich durch die unverletzte Haut eingedrungen waren.

Impferscheinungen. Die Symptome der Affensyphilis haben im Aussehen und klinischen Verlauf mit der menschlichen Lues die größte Ähnlichkeit. Auch histologisch entsprechen die bei der Affeninfektion auftretenden Veränderungen an der Impfstelle denen bei menschlichem Primäraffekt.

Die Angaben über **Inkubationszeit** schwanken zwischen 11 und 75 Tagen; im Durchschnitt kann man 3—5 Wochen rechnen. Einesteils kann sie von der Virulenz des Impfmaterials und Tierempfänglichkeit abhängen, andererseits aber auch von der Beurteilung des Beginns. Finger und Landsteiner hielten die Inkubation mit dem Auftreten der ersten spezifischen Erscheinungen für abgeschlossen, Neisser mit dem Zeitpunkt, an welchem ein klinisch deutlich diagnostizierter Primäraffekt vorlag.

1. Primärerscheinungen.

Die an den Augenbrauen entstehenden Primäraffekte (s. Tafel XI Fig. 1) sind zwar bei den verschiedenen Affenarten im allgemeinen gleichmäßig, in ihrem Aussehen aber nicht immer dieselben. Meist bilden sich einige Wochen nach Abheilung der Impfverletzungen zunächst fleckige Rötungen mit folgender blauroter derber, gegen die Unterlage mehr oder minder scharf abgesetzter, oft knotiger Infiltration bzw. Induration (Neisser). Die Oberfläche bleibt teils trocken, schuppend, teils geht sie in ganz charakteristische „gefirnißte", spärlich sezernierende Flächen über. Häufig auch bilden sich Knötchen bis Linsengröße mit oberflächlichem Zerfall; nicht selten konfluieren mehrere derartige Erosionen und es können größere „landkartenförmig kontourierte" (Finger und Landsteiner) Ulzerationen entstehen, die größere Bezirke, fast ein ganzes oberes Augenlid einnehmen. Nach Neisser kommen größere Ulzerationen häufig durch sekundäre (traumatische oder infektiöse) Einflüsse zustande. — Differenzen in den Erscheinungen können außer durch In- und Extensität der Impfungen auch durch verschiedenen Parasitengehalt bedingt sein, oder auch durch das Alter der Affen erklärt werden. Nach Neisser zeigen alte Tiere öfter sehr schöne, nach Breite und Tiefe gut entwickelte Indurationen, während jüngere Tiere nur kleine papelartige, schuppende, distinkt stehende Effloreszenzen aufweisen. Nicht selten sind, namentlich bei niederen Affen, die Impfeffekte sehr gering und verschwinden bald wieder; nur der Treponemanachweis läßt dann die spezifische Natur erkennen. Manchmal entwickeln sich auch aus ganz unbedeutenden Erscheinungen schnell „in fast explosionsartiger Weise" typische Primäraffekte. — An den Genitalien entstehen außer den typischen Affekten nicht selten nekrotische, speckig-belegte Ulzerationen.

Die Zahl der Treponemen ist in den Affenprimäraffekten in der Regel geringer als bei Menschen. Daß sie aber fast stets nachzuweisen sind, hat außer vielen anderen Untersuchern insbesondere auch v. Prowazek (1907) an dem reichlichen Materiale Neisser's auf Batavia gezeigt; dabei mußte häufig eine intensive 48stündige Färbung angewendet werden.

Bei regelmäßigen täglichen Untersuchungen der Impfstellen stellte Metschnikoff fest, daß in der Inkubation 15 Tage lang keine Parasiten nachzuweisen waren.

Der Verlauf der Primäraffekte ist verschieden. Sie können, namentlich wenn klein und trocken, schnell, auch ohne Behandlung verschwinden oder monatelang bleiben. Neisser charakterisiert die Möglichkeiten zusammenfassend: bald Abheilen ohne Exkoriationen nur mit Schuppenbildung; bald ulzeröser Zerfall mit wechselnder Neigung zu serpiginöser Ausbreitung und mit Narbenbildung; bald anscheinende

restitutio ad integrum; bald Atrophie mit und ohne Pigmentanomalien, bei denen wieder sowohl Hyper-, wie Depigmentierungen zur Beobachtung gelangen.

Für die syphilitische Natur der bei Affen erzeugten Primärerscheinungen sprechen außer dem lokalen Pallidanachweis die vielfach gelungenen Serienimpfungen (Thibierge und Ravaut, Metschnikoff, Finger und Landsteiner, Neisser, Hoffmann u. a.), bis zur 50. Generation, mit Pallidanachweis auch in den späteren Generationen, wobei die Virulenz häufig zuzunehmen schien; ferner das Nichtgelingen der Erzeugung von gleichen Impfeffekten bei Impfung mit dem verschiedensten Material nichtsyphilitischer Herkunft und weiterhin auch das Auftreten von Sekundärerscheinungen.

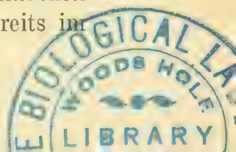
2. Sekundärerscheinungen.

a) Bei antropomorphen Affen. Wie schon angedeutet (S. 421) hatten Metschnikoff und Roux bei einer Anzahl von geimpften Schimpansen disseminierte papulöse Haut- und Schleimhauteruptionen gesehen, Neisser auch bei Gibbons und Orang-Utans. Auch von anderen sind Sekundärsymptome bei höheren Affen nach kutaner Impfung, also offenbar auf hämatogenem Wege entstanden, nachgewiesen. Von den Eruptionen konnte positiv weitergeimpft werden. — Metschnikoff sah auch bei zwei Schimpansen ein reichliches ulzerierendes Exanthem (vielleicht Mischinfektion?), bei anderen auch nervöse Störungen, Parese und Paralyse der hinteren Extremitäten (ob syphilitisch?). Außer mitunter Milzhypertrophie konnte Metschnikoff keine Veränderungen der inneren Organe nachweisen. Milhit berichtete über experimentelle Lebersyphilis bei Schimpansen; Grünbaum und Smedley-Leeds über Veränderungen an Hirngefäßen.

b) Bei niederen Affen. Während man lange die schon früher berichteten Befunde von Sekundärerscheinungen bei niederen Affen: Defluvium, disseminierte papulo-squamöse und andere Eruptionen (Klebs, Martineau, Neumann, Siegel, Kraus und Volk, Schereschewsky) mit Mißtrauen betrachtete, konnte durch die Treponema-Entdeckung mit Sicherheit das — wenn auch seltene — Vorkommen von Sekundärsymptomen festgestellt werden. Neisser hielt die syphilitische Natur „der bei niederen Affen so häufigen ekzemartigen papulo-krustösen Exantheme“ nicht eher für bewiesen, als bis durch positive Weiterimpfung oder Pallidanachweis der sichere Beweis erbracht sei; klinisch lasse sich die Diagnose nicht sicher stellen. Wechselmann hatte die Siegel'schen Sekundärerscheinungen bezweifelt mit dem Hinweis darauf, daß er bei einem mit normalem Kaninchenblut inokulierten Macacus ähnliche Erscheinungen erzielt hatte wie Siegel mit Blut von „syphilitischen“ Tieren, nämlich: schwarze Infiltrate, Abblätterungen, infiltrierte und ulzerierte Stellen usw. — Siegel sah seine Sekundärerscheinungen namentlich bei Pavianen; die Exantheme sollen denen bei Schimpansen entsprechen und hauptsächlich aufgetreten sein, wenn die Affen bei höheren Temperaturen gehalten wurden.

Von vielen Experimentatoren sind, selbst längere Zeit nach der Abheilung des Primäraffekts an der Impfstelle serpiginöse papulöse Neubildungen, die zum Teil als regionäre Rezidive aufgefaßt sind, beobachtet worden. Die syphilitische Natur wurde durch positive Weiterimpfungen und Pallidanachweis mehrfach nachgewiesen.

Zabolotny (1906) sah bei Pavianen außer Primäraffekten Lymphangitis und Drüsenschwellung; ferner mehrmals papulöse Erscheinungen, meist desquamiert. Ferner konnte er 2 und 3 Jahre nach der Infektion eine Gefäßsklerose und Bindegewebswucherung in der Leber, Milz (mit Treponemen) und Niere sowie eine Sattelnase mit Treponemen im Schleim, endlich eine starke Verdickung der Schädelknochen nachweisen. — Baermann weist in einer neueren Arbeit darauf hin, daß er bereits im



August 1907 in der Ärztevereinigung in Deli (Ref. Geneesk. Tijdschr. Bd. 48) durch subkutane Impfung von 1 ccm Blut positive Impferfolge mit Sekundärerscheinungen (Pallidanachweis und nach Weiterimpfung: Primäraffekte mit Pallida) erzielt habe. Durch Pallidanachweis und positive Weiterimpfung sind auch die E. Hoffmann'schen Befunde (1908) von Sekundärsyphilis bei niederen Affen sichergestellt: 12 bis 13 Wochen nach Injektion von Saugserum mit reichlich Parasiten in die Hoden trat bei zwei Tieren ein disseminiertes papulöses Exanthem mit Drüsenschwellungen auf, das stellenweise circinäre und satellitiforme (den menschlichen Formen entsprechend) Gestalt annahm (demonstriert Berl. med. Ges. 15. VII. 1908). — Loehe (1909) sah bei einem Cercocebus fuliginosus-Weibchen nach Impfung in die Mammae ein disseminiertes papulöses Exanthem. Selbst bei Seidenäffchen sind von E. Hoffmann und Loehe nach Impfung in Haut der Genitalien und Augenlider Sekundärerscheinungen beobachtet. Auch wurde eine metastatische Drüsen- und Hodenerkrankung nachgewiesen mit sehr vielen Treponemen; bei diesen und anderen Affen ferner auch Schleimhautpapeln der Mund-, Konjunktival- und Genitalschleimhaut. — Uhlenhuth (1911) beobachtete bei einem niederen Affen nach intravenöser Infektion typische Allgemeininfektion, von der eine Weiterimpfung auf Kaninchenhoden gelang. — Grouven demonstrierte im Dezember 1910 im Ärzteverein zu Halle einen Macacus rhesus, bei dem ein ausgedehntes papulöses Exanthem an der Bauchhaut mit sehr zahlreichen typischen Treponemen bestand; außerdem rosenkranzartige indolente Leistendrüsenschwellung. Die Impfung war vor über 2 Jahren kutan von sekundärer Kaninchenpapel erfolgt. Im Jahre 1911 berichtete Grouven über einen weiteren Fall.

Diese Aufzählungen mögen genügen, um zu beweisen, daß eine Allgemeinverbreitung der Treponemen auch bei niederen Affen nach kutaner und subkutaner, intravenöser und Hoden-Impfung stattfindet, und daß Sekundärerscheinungen auftreten können. Erwähnt seien nur noch einzelne seltenere Befunde: Hoffmann sah eine Caries sicca des Schädels bei einem Makaken. Klebs (1879) hatte schon Knochennarben am Stirnbein (Lues III?) beschrieben. Ehrmann beobachtete bei einem Affen eine typische einseitige Iritis. Salomon hatte bereits im Jahre 1904 über gelungene Konjunktivaimpfung und Korneaimpfung bei Affen mit folgender Iritis berichtet. — Siegel sowie Zabolotny sahen bei der Affensyphilis auch Veränderungen in den inneren Organen, namentlich der Leber, die vielleicht auf die Infektion zurückzuführen seien.

Wenn nun auch bei niederen Affen in der Regel keine inneren Organerkrankungen pathologisch-anatomisch nachzuweisen sind, so ist doch eine Allgemeindurchseuchung sicher anzunehmen, wie namentlich auch aus den positiven Verimpfungen mit vielen Organen: Milz, Knochenmark, Leber, Hoden, Ovarien, Nebennieren, Drüsen und auch Blut hervorgeht. Neisser konnte schon 54 Tage nach der Infektion positiv mit Organbrei weiterimpfen. Demgegenüber sind die bisherigen Treponemabefunde in den inneren Organen (Milz, Hoden und Knochenmark) nur spärlich. v. Prowazek, der viele Untersuchungen machte, sagt: „In Milzausstrichen wurde einmal eine kurze, nicht sehr deutliche Spirochäte gesehen; in den nach Levaditi gefärbten Schnitten durch einen Mac. cynomolgus-Hoden wurden in zwei Fällen freie Spirochäten konstatiert. Zabolotny demonstrierte auf dem Berner Kongreß (1906) Präparate aus der Milz von Cynocephalus babuin mit Spirochäten, die (vorher) Schaudinn einmal im Knochenmark der Affen nachgewiesen hatte.“ (S. auch p. 370.)

Neisser erkennt einen Unterschied zwischen der Syphilis der höheren und niederen Affen nicht an. „Bei allen handelt es sich um eine chronisch verlaufende Infektion mit biologisch-konstitutioneller Beeinflussung der gesamten Gewebe. Verschieden sind nur die äußerlich in die Erscheinung tretenden klinisch, anatomisch und histologisch nachweisbaren Folgen.“

Thibierge und Ravaut, die im Jahre 1905 mit unter den Ersten die Augenbrauen als Prädilektionsstellen für erfolgreiche Impfungen der niederen Affen nachwiesen, sind der Ansicht, daß der Affe für die Lues dasselbe bedeutet wie das Meerschweinchen für die Tuberkulose.

Über die Frage, ob Tier- und Menschensyphilis identisch sind, herrscht noch keine Einigkeit, vor allen Dingen, ob die niederen Affen nicht etwa nur „Treponematräger" sind mit lebenden virulenten Parasiten, „pathische Pallidawirte mit apathischen Lokalisationen" (Lang), nach Jadassohn anscheinend nur „invadiert", nicht „infiziert", nach Levaditi „Syphilis attenuée". Darüber werden erst jahrelange Beobachtungen von infizierten Tieren definitiven Aufschluß geben (vgl. die angeführten Mitteilungen von Grouven S. 431). Den Überimpfungen von Affen auf Menschen stehen natürlich Bedenken entgegen. Die von Metschnikoff angeführten Beobachtungen lassen noch keine endgültigen Schlüsse bezüglich der Abschwächung des Virus für den Menschen zu: Metschnikoff beschrieb eine Lippenulzeration syphilitischer Natur ohne Sekundärerscheinung bei einem Laboratoriumsdiener, die nach seiner Ansicht von einer Affenaffektion herrührte. Ferner impfte er eine 79jährige Frau mit Affenvirus am Oberarm; es entstanden nur kleine Knötchen. Im ersteren Falle ist der Ausgang vom Affen keineswegs bewiesen und der letztere ist auch nicht im Sinne einer Virusabschwächung absolut beweiskräftig. Metschnikoff hatte auf Grund seiner Annahme der Virulenzabnahme der Treponemen durch Passagen in niederen Affen die Möglichkeit von Schutzimpfungen bei Prostituierten und in Gegenden mit häufigen extragenitalen Infektionen (z. B. Rußland) in Betracht gezogen.

Die sich aus der experimentellen Affen-Syphilisforschung ergebenden Resultate bezüglich Schutzimpfung und Immunität sowie auch Therapie sind in ihren wichtigsten Punkten an anderer Stelle besprochen. Hier sei nur zusammenfassend erwähnt, daß die Erkrankung eine gewisse relative Immunität, jedenfalls eine Organ-, z. B. Hautimmunität hinterläßt. Sicher geheilte Tiere sind aber wieder der Reinfektion zugängig. Nach Buschke und Fischer ließ sich bei zwei florid syphilitischen Affen mit Hautimmunität durch Impfung in die Hodensubstanz eine der menschlichen Orchitis fibrosa syph. tertiaria gleichende Affektion erreichen. Superinfektionen sind auch noch längere Zeit nach der Impfung, selbst mitunter noch nach Ausbruch der lokalen Erscheinungen zu erzielen (Finger und Landsteiner, Kraus und Volk). Die Hautimmunität scheint erst eine vollständige zu werden, wenn der Primäraffekt bereits einige Zeit bestanden hat.

II. Treponema-Übertragung auf Kaninchen.

Geschichtliches. Haensell hatte schon im Jahre 1881 über positive Syphilisübertragung auf Kaninchenaugen von primären, sekundären und auch tertiären Syphilisprodukten aus berichtet. Nach einer Inkubation von ca. 1 Monat entstanden Iritiden und Keratitiden; nach 3 Monaten Hornhautulcera. Bei der Sektion ließen sich in Leber und Lungen Knötchen nachweisen, die für Gummen gehalten wurden. Diese Befunde blieben lange unbeachtet. Auch die Augen-Impfresultate von W. Schulze (März 1905ff.) fanden wenig Anerkennung, obgleich Schulze berichtete, daß ihm die Rückimpfung auf Affen gelang. W. Schulze erbrachte allerdings bei seinen in späteren Publikationen mitgeteilten Impfungen nicht den Pallidanachweis. Seine beschriebenen Affektionen werden fast allgemein für nicht identisch mit den im Jahre 1906 zuerst von Bertarelli einwandfrei nachgewiesenen Übertragungen auf das Kaninchenauge gehalten, bei denen sogleich der Pallidanachweis in Schnitten gelang. Mit den Befunden

von Bertarelli stimmen die von Scherber (1906) sowie Greeff und Clausen (1906) und vielen anderen überein. Bertarelli zeigte auch die Möglichkeit der Fortzüchtung der Treponemen in Hornhautpassagen. Das „Virus Bertarelli" hat in der Folge in der experimentellen Syphilisforschung eine große Rolle gespielt und ist in den verschiedensten Laboratorien, zuerst in Deutschland in dem der Berliner Charité-Hautklinik von E. Hoffmann weitergezüchtet worden. Daraus läßt sich aber keineswegs die Berechtigung ableiten, den Stamm „Virus Bertarelli-Hoffmann" zu nennen. — Schucht publizierte im Januar 1907 Beobachtungen von Keratitis parenchymatosa, Iritis gummosa, u. a. von Inguinaldrüsenimpfung, ähnlich wie vorher Greeff und Clausen. Schucht sah bis 50 Pallidae in einem Gesichtsfeld von Keratitis in Giemsa-Ausstrichen. Auch Mühlens (1907) sah kurz darauf viele Giemsa- und auch (mit Frosch) lebende Hornhauttreponemen im Dunkelfeld. Interessant war auch eine von ihm (1907) gezüchtete Passage: menschliche latent syphilitische Leistendrüse (Pallida +) — Kaninchenhornhaut (Pallida + + +) — Affenaugenbraue — Kaninchenkornea (Pallida + + +). (Eine ähnliche Passage haben Uhlenhuth und Mulzer 3 Jahre später mitgeteilt.) Mühlens berichtete 1907 auch über Erzeugung von Kaninchen-Keratitis mit Nebennieren- und Lungensaft von Lues congenita; auch Passage gelang im ersten Falle. — Schließlich ergab sich durch zahlreiche Versuche die Verimpfbarkeit fast aller syphilitischer Produkte auf die Kaninchenhornhaut, sowie die Möglichkeit der Rückimpfung auf Affen und auch auf Kaninchenhoden. — Die Empfänglichkeit des Kaninchenhodens für das Treponema wurde zuerst im Jahre 1907 von Parodi nachgewiesen, und im Anschluß hieran zeigten E. Hoffmann, Loehe und Mulzer (1908) auch die Impfbarkeit der Hodenhaut. Ossola und Truffi sowie Uhlenhuth und Mulzer machten sich dann noch besonders um die Erforschung der Hodensyphilis verdient.

Schon W. Schulze hatte im Jahre 1905 auf angebliche Zeichen der Kaninchen-Allgemeininfektion nach Augenimpfung hingewiesen; auch Siegel behauptete (1905), von syphilitischen Kaninchen positive Rückimpfungen auf Affen erzielt zu haben. Diese Befunde wurden fast allgemein nicht als einwandfrei anerkannt wegen der Art der Erscheinungen und weil der Nachweis der — allerdings von den Genannten nicht für spezifisch gehaltenen — Pallida fehlte. W. Schulze hatte als Sekundärerscheinungen bezeichnet: Hautulzerationen, Rhagaden und starken Haarausfall. — Neisser (1908) zeigte durch positive Rückimpfung von Milz-Knochenmarkbrei von im Hoden infizierten Kaninchen auf niedere Affen, daß eine Allgemeindurchseuchung des Kaninchens tatsächlich anzunehmen sei; von anderen bestätigt. Einen absolut einwandfreien Beweis der Allgemeininfektion von Kaninchen nach Augeninfektion erbrachte Grouven im Jahre 1908, indem er in Sekundärerscheinungen zahlreiche Pallidae nachwies. Uhlenhuth gelang es, nach intrakardialer Impfung Sekundärerscheinungen mit Pallida festzustellen. — Über Kulturimpfungen siehe S. 417ff.

1. Hornhautimpfungen.

Material und Impftechnik. Zu den Impfungen eignen sich anscheinend alle virulente Treponemen enthaltenden luetischen Produkte, selbst Lues III (Simonelli, Chirivino) und Affen- sowie Kaninchenhoden-Material. Siegel und Schulze (1905) gaben an, daß ihnen auch Impfungen mit Nierenemulsion von syphilitischen Kaninchen gelungen seien; ferner mit Luetikerblut und sogar mit konserviertem Impfstoff (Kondylom- und Schankergewebe mit Glyzerin und Wasser $\overline{aa}$), selbst nach 20 und 42 Tagen. Zum mindesten scheint dieser letztere Befund sehr auffallend.

Die Impfungen werden vorgenommen entweder mit kleinen Gewebsstückchen, Gewebsbrei oder Reizsaft. Am besten eignet sich Material, das möglichst wenig mit

anderen Keimen verunreinigt ist, damit Panophthalmien vermieden werden. So sind geschlossene Affektionen und nicht zum mindesten Drüsen ein gutes Ausgangsmaterial. Man könnte daran denken, bei verdächtigen Affektionen (Drüsen, Tumoren), namentlich wenn der Pallidanachweis nicht gelingt, das Kaninchenauge als diagnostisches Hilfsmittel, als Reagens heranzuziehen, wie z. B. der Erfolg einer von MÜHLENS (1907) von latent-luetischer Drüse (Pallida allerdings +) vorgenommenen Hornhautimpfung (Pallida + + +) zeigt (s. auch S. 428).

Das Impfmaterial wird entweder intrakorneal oder intraokular (BERTARELLI) eingeimpft. Die intrakorneale Infektion geschieht durch Anlegen von Taschen, am besten am Hornhautrande in der Nähe des Limbus, oder durch Hornhautstichelungen (50—100 Stiche, SCHUCHT) mit folgender Einbringung bzw. Einreibung (2—5 Minuten lang) des Materials. Die Taschenbildung wird mittels zweischneidiger feiner scharfer Impflanzette oder nach MÜHLENS sehr zweckmäßig mit der scharfen Spitze einer neuen Kanüle einer Pravazspritze vorgenommen; mit dieser kann man auch gut kleine Gewebsstückchen in die Taschen und vordere Augenkammer einbringen. — Für die intraokulare Impfung wird zunächst durch Einstich dicht am Limbus corneae die vordere Augenkammer eröffnet und Kammerwasser abgelassen. Dann schiebt man luetische Stückchen ein oder injiziert Material (ohne Luftblase). SCHERBER legt Wert auf Irisverletzungen. Hat man stark verunreinigtes Material, dann impft man am besten intrakorneal.

Impferscheinungen.

Primärsymptome. Impft man beide Hornhäute gleichzeitig, dann können auf beiden Augen positive Erfolge auftreten. E. HOFFMANN sagt folgendes: Erstmalige Impfung in nur ein Auge hatte nur in 41 % positives Resultat, zweitmalige etwa zwei Monate nach erfolgloser Inokulation auf dem anderen Auge vorgenommene Impfung dagegen in 100 %. Gleichzeitige Impfung in beide vorderen Augenkammern bewirkt fast stets (92 %) ein- oder doppelseitige Keratitis unter Verringerung der Inkubationszeit. — Wenn MÜHLENS bei seiner Impfung von Punktions-Saft einer latent luetischen Drüse bei zwei Kaninchen auf allen vier Augen positiven Impferfolg (also 100 %) hatte, dann spricht das für eine bedeutende Virulenz des Drüsenmaterials.

Im Gegensatz zu solch seltenem Resultat fallen die ersten Überimpfungen von Mensch bzw. Affe auf Kaninchenauge lange nicht alle positiv aus. Einige Untersucher hatten nur 8—10 % positive Resultate trotz günstigen treponemareichen Ausgangsmaterials. Dabei ist jedoch zu erwägen, daß vielleicht manche positive Resultate übersehen worden sind. Denn es können Keratitiden mitunter erst nach längerer Zeit auftreten (MÜHLENS nach 3½, PÜRCKHAUER nach 5 Monaten beobachtet).

Inkubation. In der Regel erscheinen nach der Abheilung der Impfläsionen die typischen Symptome nach einer Inkubation von 3—6 Wochen im Gegensatz zu den Befunden von SCHULZE und SIEGEL, die eine Inkubation von 3 bis höchstens 7 Tagen angaben und schon am 10.—14. Tage den Höhepunkt des Augenprozesses feststellten. Daraus und auch aus der Beschreibung ergibt sich, daß SCHULZE und SIEGEL nicht die typischen Affektionen der anderen Autoren gesehen hatten.

Keratitis parenchymatosa. BERTARELLI charakterisierte zuerst das pathologisch-anatomische Bild etwa folgendermaßen: An einigen Stellen der Läsion ist die Struktur der Hornhaut fast verschwunden; es findet sich eine lebhafte leukozytäre Infiltration vor. Diese geht über die Grenzen der makroskopischen Läsion weit hinaus. In der ganzen Zone der verletzten Hornhaut liegen Myriaden von Spirochäten, die alle Merkmale der *Spirochaeta pallida* besitzen. Die Spirochäten folgen den Richtungen der Bindegewebslamellen. An den Stellen, wo die Veränderungen am stärksten sind und die Infiltration am deutlichsten hervortritt, sind die Spirochäten selten, während da, wo die Läsion

weniger deutlich ist, und in der Nähe der Stellen, an denen die unveränderte Hornhaut anstößt, selbst in unveränderter Cornea die Anhäufung der Spirochäten zuweilen enorm ist. Über die Hornhaut hinaus werden Spirochäten nicht beobachtet. Das Geschwür zeigt zwar nur lokalen Charakter, aber mit ausgesprochener Tendenz zur weiteren Ausbreitung. Es handelt sich bei der Affektion also um die typischen Veränderungen von syphilitischen Erkrankungen.

Greeff und Clausen machten noch besonders darauf aufmerksam, daß sich die Parasiten nur in Flach-(nicht in Quer-)Schnitten, dem Verlauf der Saftkanäle entsprechend, nachweisen lassen. Sie bezeichneten das klinische Bild als das der „Keratitis interstitialis e lue hereditaria."

Klinisch bemerkt man eine zunehmende Hornhauttrübung, ausgehend von der Impfstelle und schließlich einen mehr oder minder großen Teil der Hornhaut einnehmend; reichliche Pannusbildung am oberen Hornhautrand. (S. Tafel XI, Fig. 2.) Nicht selten geht die Trübung in ein Ulcus über. — E. Hoffmann (1909) hat neunmal umschriebene tumorartige Syphilome gesehen, die sich aus zentral oder peripher beginnender Keratitis entwickelt hatten. Sie waren von graugelblicher Farbe, lagen in der Substanz der Cornea, enthielten zahllose auch an der Oberfläche „leicht nachweisbare Spirochäten" und erinnerten an Gummen; auch im Kammerwasser fanden sich mitunter viele Parasiten. Grouven hält diese Gebilde im Widerstreit mit Hoffmann's Ansicht für identisch mit dem von ihm bereits im Jahre 1907 beschriebenen tumorartigen Granulom von Haselnußgröße am Auge, in dem sich ungeheure Parasitenmengen fanden. — Hoffmann verlangt statt der Bezeichnung Keratitis syphilitica den Namen „primäres Hornhautsyphilom", da als Folge der Impfung eine primäre Syphilis der Hornhaut entstehe; Keratitis syphilitica sei ein metastatischer Prozeß. — Nun sind aber nicht nur rezidivierende Kaninchen-Keratitiden mit Pallidabefund (Levaditi-Yamanouchi, Pürckhauer u. a.), sondern auch metastatische Entzündungen des nicht geimpften Auges (Grouven u. a.) sowie auch angeborene Keratitis, Pallida + + + (Wieman 1908) beschrieben. Möglich, daß es sich bei den beobachteten späten Inkubationen auch schon um Rezidive einer leichten, schnell verschwundenen, übersehenen primären Keratitis gehandelt hat. In der Regel bilden sich die ausgesprochenen Keratitiden nach einigen Wochen bis Monaten, mitunter aber auch schneller, „rapide in 1 Tage" (Pürckhauer) zurück.

Bei der typischen Keratitis lassen sich die Treponemen außer in Levaditi-Schnitten auch in Giemsa-Ausstrichpräparaten und lebend, besonders im Dunkelfeld meist in großer Zahl nachweisen. (S. auch p. 428.) Damit waren die Einwände von Siegel und W. Schulze gegen diese „Silberspirochäten" widerlegt.

Levaditi und Yamanouchi stellten bei systematischen Beobachtungen fest, daß die Treponemen bei Passageimpfungen in der Kaninchenhornhaut erst etwa 15—20 Tage nach der Impfung das alte eingeimpfte Hornhautstückchen verlassen und dann in das inzwischen gut vorbereitete Gewebe der geimpften Cornea übergehen, wenn daselbst Neubildung von Blut- und Lymphgefäßen sowie zelliger Elemente stattgefunden hat. Hiervon sei die Haftung der Treponemen und die Dauer der Inkubation abhängig, nicht von einem etwaigen Entwicklungszyklus der Treponemen.

Bei den nach dem Vorgange von Bertarelli vorgenommenen Serienimpfungen der Keratitis nimmt die Virulenz bzw. die Anpassung an das Kaninchen meist zu; 50—100 % positive Impfungen, die Inkubation bleibt schwankend, 3—6 Wochen, (Pürckhauer 1—5 Monate).

Iritische Erscheinungen. Die Haupterscheinungen sind: graurote Verfärbung der Iris, Knötchenbildung und Synechien. Grouven berichtete einen Irispapelbefund mit Treponemanachweis. Im übrigen hebt Pürckhauer kürzlich (1911) hervor, daß

ker Treponemennachweis bei Iritis der Kaninchen „bisher nicht gelungen" sei; auch neine Weiterimpfung außer der von W. Schulze angegebenen, der stets bei Affen dach Impfung von Kanincheniritis — 14 Tage vorher vom Menschen geimpft — typische Primär- und Sekundärerscheinungen gesehen haben will.

Sekundärsymptome. Grouven beschrieb im Jahre 1907 und 1908 bei einem in die vordere Augenkammer geimpften Kaninchen, das nach 16 Monaten unter schweren Allgemeinerscheinungen zugrunde ging, die folgenden Symptome: primäre haselnußgroße Granulombildung am geimpften (s. S. 430), sekundäre Keratitis am nichtgeimpften Auge (Pallida + + +), Haarausfall, Infiltrate und Rhagaden an Nasenflügeln, Papeln am Präputium und Anus, papulo-pustulöser Ausschlag auf dem Rücken, stellenweise mit geschwürigem Zerfall. Pallida an den genannten Stellen positiv; weiterhin auch im Hoden (kleine Knötchen) und Nebenhoden, in Nasenschleimhaut, Iris, Ziliarkörper u. a., ferner in einer Beckendrüse und Mesenterialschleimhaut sowie vereinzelt in Niere. Weiterimpfungen von Präputiumpapel auf Makaken und vom Corneatumor auf Kaninchenaugenlid gelangen. Im Jahre 1910 berichtete Grouven über zwei weitere Kaninchen mit Sekundärsymptomen, die nach 13 bis 15 Monaten aufgetreten waren; und im folgenden Jahre teilte er außerdem mit, daß er noch „wiederholt meist gruppierte, aber ziemlich ausgedehnte Hauteruptionen" mit Spirochäten beim intraokular geimpften Kaninchen gesehen habe, stets allerdings in Jahresfrist nach der Impfung. Die Hornhautimpfung bleibt also beim Kaninchen kein streng lokalisierter Prozeß; jedenfalls sind mitunter sekundärsyphilitische Symptome nachzuweisen.

2. Hodenimpfungen.

Material und Impftechnik. Als Impfmaterial sind die verschiedensten syphilitischen Produkte von Menschen, Affen und Kaninchen benutzt. Als erster verimpfte Parodi (1907) ein syphilitisches Papelstückchen unter die Tunica vaginalis oder in Taschen unter die Epidermis des Kaninchenhodens. E. Hoffmann, Uhlenhuth u. a. spritzten Reiz- bzw. Saugserum subkutan bzw. in den Hoden ein. Truffi empfahl Skarifikationen der äußeren Genitalhaut mit Einreibungen des Materials. Die von Tomascewski (1910) als „einfach" empfohlene Methode der Einbringung von Stückchen in lange Taschen unter der Haut war schon lange vorher in manchen Laboratorien in Anwendung. — Koch sah ein Hodensyphilom bei Kaninchen nach Verimpfung von gummösem Lebergewebe eines hereditär-luetischen Kindes entstehen.

Primärerscheinungen. Nach Abheilung des traumatischen Impfeffekts treten in der Regel nach einigen Wochen bis zwei Monaten [Arning, Mühlens u. Wachenfeld (nicht publiziert) beobachteten Inkubationen von 5—7½ Monaten] zunächst kleine weißlich bis schwach rötlich gefärbte Knötchen unter der Haut auf, die ziemlich schnell an Größe zunehmen. Dabei wird die überliegende Haut gespannt; die zentrale Partie sinkt bald ein und es kann zu einer ulzerierenden Stelle kommen, die mehr oder minder große Ausdehnung einnimmt, so daß das Bild eines typischen Primäraffekts (Hoffmann) entsteht (Fig. 10). Mitunter bleiben die Knoten unter der Haut, die bis haselnußgroß, ja noch dicker werden können, auch geschlossen. Häufig tritt bald eine lymphatische Adenitis auf. Nach Impfung in den Hoden oder unter die Tunica entstehen histologisch echte Hodensyphilome (Parodi) mit zirkumskripter Orchitis oder auch schwieliger diffuser oder zirkumskripter Periorchitis. Übereinstimmend wird berichtet, daß die typischen Treponemen in enormen Mengen „in Reinkultur" mit allen Untersuchungsmethoden (Tafel VIII, Figg. 4, 6, 7 u. Tafel IX, Fig. 4) aus den histologisch luetischen Veränderungen nachzuweisen sind. Parodi beschrieb Treponemen auch in den Tubuli seminiferi.

Mitunter findet man auch Treponemen in geimpften Hoden, ohne daß diese nachweisbar verändert sind (Truffi, Uhlenhuth).

Sekundärsymptome. Als Ausdruck der Allgemeininfektion können schon die sehr häufigen Drüsenschwellungen aufgefaßt werden. Neisser (1908) zeigte einwandfrei, daß eine Allgemeininfektion stattfinden muß an folgendem Versuch: sieben Kaninchen wurden mit Milz-Knochenmarkbrei von syphilitischen Affen in den Hoden gespritzt. Von den nach 7—8 Wochen mit Milz-Knochenmarkbrei dieser Kaninchen vorgenommenen Affenimpfungen fielen drei positiv aus. — Truffi (1909) hat außer konstanten Drüsenschwellungen metastatische Keratitis bei einem in den Hoden geimpften Kaninchen beobachtet. Auch Mezincescu (1909) sah beiderseits Keratitis mit sehr vielen Treponemen auftreten. — Uhlenhuth und Mulzer (1910) fanden Treponemen auch im nichtgeimpften Hoden; ferner sekundäre Papelbildung am After; Impfung mit Milz-Knochenmarkbrei positiv. — Tomascewski (1911) beobachtete papulöses Syphilid am Präputium; ferner beiderseits Halsdrüsen, von denen positive Impfung auf Kaninchenhoden gelang. — Nach solchen und ähnlichen Befunden kann an der Allgemeininfektionsmöglichkeit der Kaninchen mit Auftreten von sicher luetischen Sekundärerscheinungen auch nach Hodenimpfungen kein Zweifel mehr sein. Vielleicht werden sich diese Befunde nach längeren Beobachtungen von geimpften Kaninchen noch mehren. — An dieser Stelle sei aber ausdrücklich betont, daß in allen solchen Erscheinungen unbedingt der sichere Pallidanachweis (eventuell durch Impfung) verlangt werden muß. Denn es kommen, wie Pürckhauer mit Recht betont, bei Kaninchen Erscheinungen wie Haarausfall, Rhagaden an Mund und Nase, Abmagerung usw. vor, die mit Syphilis absolut nichts zu tun haben. Von den mannigfachen Ursachen für solche Affektionen hebt Pürckhauer die Scabies hervor. In der Tat konnte auch Arning (Dem. ärztl. Verein Hamburg Nov. 1911) kürzlich bei einem „Hoden"-Kaninchen mit den genannten Erscheinungen zahllose Krätzemilben nachweisen. Eine Krätzekur mit Perubalsam bekam dem Tier ausgezeichnet. Alle Symptome verschwanden.



Fig. 10. Typische Primäraffekte in Kaninchenhodenhaut beiderseits. $^4/_5$ natürl. Größe. Mühlens phot. (*Trep. pallidum* + + +.)



Fig. 11. Rezidivierendes syphil. Ulcus in Kaninchenhodenhaut. $^4/_5$ natürl. Größe. Mühlens phot. (*Trep. pallidum* + + +.)

Verschiedentlich ist über rezidivierende Geschwüre an der Stelle des Hodenprimäraffektes, selbst nach der Exzision berichtet. So ist das in Fig. 11 abgebildete, ca. $3\frac{1}{2}$ cm große, fast kreisförmige „serpiginöse“ Ulcus (Pallida im Geschwürsrand + + +) in der Hodenhaut zwei Monate nach der Exzision des ursprünglichen Primäraffektes entstanden (Arning und Mühlens).

3. Kutane und subkutane Impfungen.

Levaditi und Yamanouchi (1908) konnten durch Impfung mit einem Korneastückchen (virus Bertarelli) ein Kaninchen am Präputium infizieren.

Grouven (1908) sah nach Impfung eines Kaninchens mit Gewebssaft aus spirochätenhaltigem Kaninchen-Korneatumor (vgl. S. 431) am oberen Augenlid eine sklerosenartige Papel entstehen (einige Pallidae im Levaditi-Schnitt).

Neisser berichtete (1908), daß es ihm entgegen den Behauptungen Siegel's (1905) niemals gelungen sei, Kaninchen mit Syphilis subkutan zu infizieren. Neisser sprach wie viele andere damals den Siegel'schen Syphiliserscheinungen bei Kaninchen jede Beweiskraft ab.

E. Hoffmann, Loehe und Mulzer teilten im Jahre 1908 mit, daß sie einen „syphilitischen Initialaffekt der Bauchhaut“ an der Einstichstelle nach Impfung in Kaninchenhoden entstehen sahen. Derartige Primäraffekte sind in der Folge in der Kaninchenhaut vielfach beobachtet (S. 431).

4. Intravenöse und intrakardiale Infektionen.

Uhlenhuth und Mulzer konnten im Jahre 1910 junge Kaninchen durch wiederholte intravenöse bzw. intrakardiale Injektionen von größeren Mengen treponemenreichen Materials (in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmte Hodensyphilome und Primäraffekte) derart infizieren, daß eine Generalisierung zustande kam. Nach zwei Monaten Inkubation entstanden in zwei Fällen auf der Skrotalhaut treponemahaltige Erosionen gleichzeitig mit typischer zirkumskripter Orchitis und Periorchitis. Weitere beobachtete Erscheinungen der Allgemeininfektion, zum Teil bei einem dieser, zum Teil bei anderen Tieren festgestellt, waren: Keratitis syphilitica, haselnußgroße Tumoren an Nase und Schwanzspitze, histologisch ähnlich Gummiknoten (Pallida + +, Überimpfung davon auf Kaninchenhoden positiv), knollige Paronychien, Hautgeschwüre im Gesicht und an den Ohrwurzeln, Coryza und papulo-ulzeröse Syphilide und schließlich starke allgemeine Ernährungsstörungen. In den genannten Produkten wurden Pallidae nachgewiesen, ebenso wie mitunter im kreisenden Blute nach intravenöser Injektion; einmal auch zahlreich in Organschnitten bei einem Tiere, das kurze Zeit nach einer wiederholten intravenösen Injektion eingegangen war.

Uhlenhuth und Mulzer wiesen auf die Ähnlichkeit der Erscheinungen mit denen der kongenitalen Lues hin. Auch sei die pathologische Anatomie der Kaninchenaffekte der bei menschlichen Produkten sehr ähnlich.

5. Immunitätsverhältnisse.

Hornhaut-Immunität. Fontana (1907), ebenso Bertarelli sowie Uhlenhuth und Weidanz konnten Kaninchen auch auf dem nicht geimpften Auge infizieren, wenn die Impfung längere Zeit nach der ersten geschah, selbst nach Eintreten der spezifischen Keratitis auf dem ersten Auge. Die Immunitätsverhältnisse sind also ähnliche wie bei der Vaccine. — Bertarelli (1908) hatte versucht, gegen die Infektion mit Hornhautvirus zu immunisieren, indem er syphilitisches Hornhautmaterial Kaninchen injizierte. Dabei soll zwar keine tatsächliche Immunisierung, aber eine Verlängerung

der Inkubation beobachtet sein. Eine solche beweist aber nach dem auf S. 429 Gesagten nichts. Die Nachkommenschaft von Kaninchenweibchen mit Hornhautsyphilis ist nicht immun. — Truffi (1910) sind aktive Immunisierungsversuche durch subkutane Einführung einer Auflösung von hereditär-luetischer Leber mißlungen. Auch passive Immunisierungsversuche mit Blutserum von anscheinend geheilten Kaninchen hatten keinen Erfolg.

Ferner steht fest, daß Kaninchen mit Keratitis parenchymatosa luetica für skrotale Impfungen empfänglich bleiben und ebenso umgekehrt. Nach Abheilung skrotaler Primäraffekte kann lokale Immunität auftreten, aber anscheinend nur eine relative, d. h. solange noch Parasiten im Kaninchenkörper sind. Nach der Heilung bzw. Parasitenvernichtung, z. B. durch Atoxyl oder Salvarsan sind Reinfektionen möglich. Tomascewski (1910) sagt: Bei Kaninchen mit skrotalen Primäraffekten scheint in einer Reihe von Fällen 7—9 Wochen post infectionem eine veränderte Reaktionsfähigkeit der Hautdecken, eine sog. Hautimmunität einzutreten (negative Impfresultate). Auch Truffi nimmt eine „relative" Immunität beim Kaninchen nach Hautimpfungen an. Die Impfeffekte der gelungenen Reinokulationen waren milder.

Uhlenhuth und Mulzer gaben an, eine günstige Beeinflussung von Kaninchensyphilis durch Behandlung mit einem aus spirochätenhaltigen Kaninchensyphilomen hergestellten Vakzin gesehen zu haben (vgl. hierzu auch Grouven S. 420).

6. Chemotherapie der Kaninchensyphilis.

Im Gegensatz zu den biologischen Behandlungsversuchen haben die chemotherapeutischen die glänzendsten Resultate gezeitigt, die auch auf die menschliche Syphilis segensreiche Anwendung gefunden haben. Darüber ist an anderer Stelle berichtet (S. 447 ff.). Hier sei nur noch einmal betont, daß gerade die experimentelle Kaninchensyphilis, zu der Bertarelli sowie Parodi den Anstoß gegeben hatten, der Ausgang für die chemotherapeutischen Erfolge gewesen ist.

III. Treponema-Übertragungen auf andere Tiere.

Auf folgende Tiere (Fleischfresser) sind noch Pallida-Übertragungen gelungen: 1. Auf Hund im Jahre 1907 von Bertarelli sowie Hoffmann und Brüning in Form von Keratitis parenchymatosa; 2. auf Schaf von denselben Autoren: Keratitis luetica; 3. auf Meerschweinchen von Bertarelli (1907): Keratitis luetica; ferner auf Meerschweinchen-Hoden von: Truffi (1909), Tomascewski (1910), W. H. Hoffmann (1910), Uhlenhuth und Mulzer (1910) und Margolis (1911); 4. auf Katze von Levaditi und Yamanouchi: Keratitis specifica; 5. auf Ziege von Bertarelli: Keratitis; ferner auf Hoden beim Ziegenbock von Uhlenhuth und Mulzer; 6. Schereschewsky erzielte im Jahre 1908 eine Spirochätenvermehrung unter der Skrotalhaut des Schweins.

F. Immunität und Immunisierung.

Das Kapitel „Immunität" interessiert uns hier nur insofern, als die Pallida selbst dabei in Frage kommt. Wenn auch in den letzten Jahren, namentlich durch die Tierexperimente verdienstvoller Forscher manche Aufschlüsse bezüglich der Immunitäts-

verhältnisse bei Lues gewonnen wurden, so sind doch noch verschiedene Punkte unklar und dürften vielleicht erst mit Hilfe der Reinkultur gelöst werden.

Bekanntlich nahm man früher fast allgemein an, daß es eine echte Immunität nach Überstehen der Syphilis gebe, namentlich weil Reinfektionen so selten schienen.

Neisser und viele andere erkennen eine echte Immunität bei Syphilis des Menschen und der Tiere im engeren Sinne des Worts nicht mehr an. Denn: 1. es kommen gar nicht so selten sichere Reinfektionen nach der Heilung vor; 2. es gibt nur eine „Anergie", d. h. ein Refraktärsein gegen neue Impfungen, „solange der Körper noch Gift beherbergt"; 3. aber auch diese „Anergie" ist keine absolute, sondern eine relative; denn auch während des Nochbestehens der Krankheit sind Superinfektionen möglich, jedenfalls in den späteren tertiären Stadien der Krankheit. — Neisser neigt ferner zu der Ansicht, daß die meisten alten Syphilitiker vor Reinfektionen geschützt seien, weil ihre Krankheit eben noch nicht geheilt ist.

Die **Reinfektionsfrage** ist unter Verwertung der gesamten Literatur besonders von John (1909) ausführlich behandelt (Literatur siehe daselbst und bei Neisser, Arb. K. G.-A. 1911 Bd. 37). Reinfektionen sind keineswegs so selten wie man früher glaubte. Seit der Treponemaentdeckung und durch den Ausfall der Wassermannschen Reaktion ist die Syphilisnatur verdächtiger Affektionen sicher festzustellen. Und so sind auch besonders in den letzten Jahren nicht wenige Reinfektionen beim Menschen mit positiven Treponemabefunden in der Literatur berichtet und im Tierexperiment an geheilten Tieren festgestellt worden. — Insbesondere wurden auch in neuerer Zeit sichere Neuinfektionen nach Heilung mit Salvarsanbehandlung berichtet (u. a. von Arning, Krefting). Reinfektionen sind schon nach einigen Monaten, aber auch nach vielen Jahren bis Jahrzehnten beobachtet. Über eine Wiederansteckung, anscheinend mit dem eigenen Pallidastamm berichtete kürzlich Behring: Primäraffekt mit reichlich Pallidae: typisches Exanthem, typische regionäre und universelle Drüsenschwellung. Diese Reinfektion geschah anscheinend von der eigenen Frau, die vom Patienten nach vor 16 Monaten überstandener Lues infiziert worden war. Hutchinson erwähnt einen Patienten mit dreimaliger Infektion; gleichzeitig beschreibt er Autoinokulationen beim selben Patienten nach Auftreten der ersten Ulzeration. Autoinokulationen sind auch sonst mehrfach berichtet.

Bei Reinfektionen können entweder (atypisch) nur Primäraffekte auftreten oder Primäraffekte und folgende typische Sekundärerscheinungen mit Treponemenbefund.

Bei den **Superinokulationen** (also während bestehender Lues) unterscheidet Neisser folgende Möglichkeiten:

A. Es entsteht ein lokaler Inokulationsaffekt:

1. mit Spirochätenansiedlung, und zwar mit oder ohne nachfolgende neue Spirochäten-Generalisierung.

2. ohne Spirochäten, eine Art „Cutireaktion" durch die spezifischen Toxine.

Zu 1. ist noch zu bemerken, daß die lokal entstehenden Prozesse nach Neisser u. a. in ihrem Charakter der „Umstimmung" der gerade vorhandenen spezifischen Reaktionsfähigkeit der Gewebe entsprechen: In der ersten Periode der ersten Inkubation entstehen „primäre" Indurationsprozesse; in der sekundären Periode eventuell sekundäre Prozesse (?); in der tertiären Periode tertiäre Prozesse (Finger und Landsteiner), bei maligner Lues rupiaähnliche Formen. In der tertiären Periode können auch primäre Erscheinungen mit oder ohne nachfolgende Allgemeininfektion zustande kommen, wenn die „Umstimmung" wieder der normalen Reaktionsfähigkeit Platz gemacht hat.

B. Es entsteht kein lokaler Inokulationsaffekt, wohl aber eine allgemeine Invasion der neuen Spirochäten. Diese veranlassen entweder keine klinischen oder neue Allgemeinerscheinungen.

Manche Forscher (Salomon, Kraus u. a.) machen einen Unterschied zwischen **Haut- und Organimmunität.** R. Kraus sagt: „Der syphilitische Primäraffekt ist wohl imstande, Immunität der Haut, nicht aber der inneren Organe zu erzeugen." Auch Salomon schien die Möglichkeit des Bestehens einer gewissen Unabhängigkeit der verschiedenen Organe bezüglich der erworbenen Immunität anzunehmen, derart, daß die Syphilis des einen die Immunität eines anderen Organs herbeiführen könne. „Ich wünsche es gewissermaßen jedem Luetiker, daß er 2, 3 Jahre nach der Infektion ein tertiäres Hautsyphilid bekommt. Dann bin ich überzeugt, er bekommt keine Paralyse und keine Tabes, wenigstens in praxi, mit vereinzelten Ausnahmen" usw. — Finger glaubt an einen Gegensatz zwischen gutartig verlaufenden Syphilisfällen mit intensiven Hauterscheinungen und bösartigen mit vorwiegender Beteiligung der inneren Organe. Ob aber das vorwiegende Befallensein der Haut die Ursache des Freibleibens der inneren Organe ist, dürfte noch nicht feststehen. Auffallend ist immerhin, daß bei maligner Hautsyphilis eine Beteiligung der inneren Organe meist fehlt. — Neisser hält den Unterschied zwischen Haut- und Organimmunität weder durch klinische noch durch experimentelle Tatsachen für bewiesen, zumal auch bei anderen Infektionskrankheiten (außer bei Vaccine) eine solche einseitige Immunität nicht bekannt sei. Durch intravenöse und subkutane syphilitische primäre Infektionen der inneren Organe von Tieren entsteht nach Neisser keine Hautimmunität. Auch bei gleichzeitiger kutaner Impfung sowie subkutaner oder intravenöser Injektion von Material wurde die Primäraffektbildung nicht nachweisbar beeinflußt. Zur Entwickelung der Immunitätsreaktion der Gewebe (Haut usw.) bedarf es bei der Syphilis einer gewissen Zeit; dann nimmt sie progressiv allmählich zu.

Der gewissermaßen relative Begriff „Immunität" bei Syphilis hat manche **Analogien mit der bei gewissen Protozoenkrankheiten.** Sie scheint an das Vorhandensein von lebenden Parasiten irgendwo im Körper gebunden zu sein. Neisser und seine Mitarbeiter fanden, daß die Organe von Affen, die eine der Reinokulation nicht zugängliche Hautimmunität erlangt hatten, noch überimpfbares Virus enthielten. So kann es sich also bei der Syphilisimmunität nicht um eine vollständige echte Immunität mit vollkommener Sterilisation der inneren Organe handeln.

Wenn nach unseren bisherigen Kenntnissen die Ansicht von einer echten erworbenen Immunität nach überstandener Syphilis nicht mehr als richtig angesehen wird, dann kann auch streng genommen von einer **Vererbung** einer echten Immunität nach Heilung der Syphilis keine Rede sein. Eventuelle auf den kindlichen Organismus übergehende „Immunkörper" verschwinden jedenfalls bald wieder.

Es ist schon mitgeteilt (S. 402ff.), daß trotz anscheinenden Gesundseins, Immunseins von Mutter oder Kind meist positive, auf latente Syphilis hinweisende Reaktionen bestehen. Noch schlagender ist das Wesen der anscheinenden Immunität als latente Lues bewiesen durch Beobachtungen, daß Kinder syphilitischer Eltern nach anfänglichem, eventuell jahrelangem Gesundsein plötzlich tardive tertiäre Symptome als Ausdruck ihrer kongenitalen Lues zeigten. So kann denn die vorhandene latente Syphilis bei Kindern vor Neuinfektionen schützen und echte Immunität vortäuschen. Auch eine von väterlicher Seite stammende Immunität, wie sie vielfach angenommen wurde, scheint nach neueren Arbeiten ausgeschlossen.

Im übrigen sei bezüglich dieser Streitfragen bei der kongenitalen Lues auch auf die diesbezügliche Spezialfach-Literatur verwiesen.

Neisser hält auch nicht den für die Vererbung von Immunität vielfach angeführten Grund für stichhaltig: daß nämlich die Syphilis bedeutend an Bösartigkeit verloren habe und diese Abschwächung auf Durchseuchung, eine teilweise Immunität der Bevölkerung zurückzuführen sei. Auch ohne Zuhilfenahme jeglicher Immunitätsvererbung könne der jetzige anscheinend harmlosere Verlauf durch eine kritische Gegen-

überstellung der hygienischen, ärztlichen und therapeutischen Verhältnisse von einst und jetzt erklärt werden. Auch können bekanntlich individuelle Dispositionen und Rassenunterschiede eine Rolle bezüglich der Reaktion gegenüber dem Syphilisvirus spielen und dadurch graduelle Unterschiede in den Erscheinungen erklärt werden. — Schließlich wären auch noch Qualitätsdifferenzen der Treponemenstämme selbst denkbar.

So ist denn auch das Bestehen einer echten angeborenen Immunität von längerer Dauer zum mindesten höchst unwahrscheinlich.

Wie erklärt sich nun das Eintreten von **Rezidiven**?

Zunächst ergibt sich aus dem Vorkommen von Rückfällen, daß die Parasiten sich in der Latenzperiode irgendwo lebensfähig im Organismus gehalten haben. Ähnlich wie Finger und Landsteiner ist Levaditi der Ansicht, daß die im Körper von Beginn der Sekundärperiode an entstehenden „Antikörper" ein Hindernis für die Vermehrung und weitere aktive Tätigkeit der Treponemen bilden. Nach einer gewissen Zeit aber würden die Treponemen gewissermaßen gegen die eigenen Antikörper immun, vermehren sich und machen durch neue Invasionen Rezidive. Levaditi bezeichnet diese Theorie aber selbst als Hypothese. Nach ihr erklärt er auch das Ausbleiben von Reinfektionen und Superinfektionen damit, daß von außen kommende, andere (nicht immune) Treponemen dem Einfluß der Antikörper unterliegen, solange diese in genügender Menge vorhanden sind.

Das zyklische Auftreten von Rezidiven bei Syphilis wäre also auf einen Wechsel in den Immunitätsverhältnissen zurückzuführen.

Daß die bei der Generalisierung im Körper disseminierten Treponemen selbst jahrelang (ähnlich wie Parasiten bei anderen Protozoen-Krankheiten) im Körper latent bleiben und auch noch nach sehr langer Zeit zu Metastasen führen können, ist durch viele Beobachtungen gesichert. So werden nicht nur die lokalen Rezidive auf den Tonsillen und der Haut durch an den Stellen geheilter Affektionen zurückgebliebene, wiederholt nachgewiesene Treponemen erklärt, sondern auch solche an entfernten Körperstellen, indem eine Weiterverbreitung auf hämatogenem Wege stattfindet. Sandmann und andere wiesen durch Impfungen an Affen mit Resten von syphilitischen Effloreszenzen nach, daß noch jahrelang nach der anscheinenden Heilung lebensfähiges Virus in denselben vorhanden war. Damit wird außer den lokalen Rezidiven auch die Möglichkeit erklärt, daß symptomfreie Syphilitiker infizieren. Außer an den Stellen früherer Affektionen können sich Spirochätendepots, von denen neue Disseminationen veranlaßt werden, auch noch in inneren, namentlich den drüsigen Organen und dem Knochenmark finden.

Auch für die Erklärung des Zustandekommens der spätsyphilitischen Rezidive gibt es zwei Möglichkeiten (Neisser): Es kann sich um Prozesse handeln, die von Spirochäten ausgehen, welche seit der ersten Dissemination an der betreffenden Stelle lagerten, oder es handelt sich um richtige Metastasen auf dem Blutwege von anderen Spirochätenherden aus.

Der Mechanismus beim Zustandekommen der relativen Syphilisimmunität ist noch nicht aufgeklärt. Auf Grund namentlich von Beobachtungen in Schnittpräparaten (s. früher) muß zunächst das Vorkommen einer **Phagozytose**, einer Aufnahme, wahrscheinlich auch Zerstörung der Treponemen durch Phagozyten als sehr wahrscheinlich angenommen werden. Durch Phagozytose der subkutan injizierten Treponemen erklärten Levaditi und Neisser auch das Nichtgelingen von subkutanen Infektionen.

Über die Natur von eventuellen im Serum vorhandenen, von verschiedenen Autoren angenommenen „**Antikörpern**" und die Art ihrer Einwirkung auf die Treponemen wissen wir so gut wie nichts.

Landsteiner nimmt an, daß Antigene oder fertige Antistoffe durch das Serum in die Gewebe, namentlich auch in die Haut gelangen und dort eine lange bestehende Immunität hervorrufen. Auch Neisser neigt zu dem Gedanken, daß sich im Serum „Schutzstoffe" befinden. Nur ist im Serum ihre Quantität und Konzentration zu gering, als daß man sie in diesem verdünnten Zustande mit den bisherigen Methoden experimentell in vitro oder in vivo nachweisen könnte. Antikörper parasitizider Natur sollen nach Neisser im Verlauf der Syphilis nicht auftreten. Neisser sagt ferner: „Wenn wir nun keine tatsächlichen Unterlagen für die Annahme irgendwelcher im Serum enthaltenen „Antikörper" (im weitesten Sinne des Wortes) haben, so müssen wir uns vorstellen, daß es Differenzen der Zellen und Gewebe in einem normalen Organismus einerseits und einem syphilitischen andererseits sind, welche es bewirken, daß Spirochäten, mögen es nun fremde oder eigene sein, im kranken Körper Wachstum und Vermehrung erschwerende resp. verhindernde Verhältnisse vorfinden."

Der Nachweis von Treponema-„**Lysinen**" (oder wie man sie nennen will) und **-Agglutininen** ist noch nicht einwandfrei geglückt. Vereinzelte Berichte über Agglutinationen von Treponemen mittels Syphilitikerserum (Hoffmann, v. Prowazek, Zabolotny und Maslakowetz) haben keine einwandfreie Bedeutung. Auch die Kulturen haben bisher keine Aufklärung in diesem Sinne gebracht. Wohl kann man von Agglomerationen reden, die aber auch ohne Zusatz von spezifischem Serum beobachtet werden können. Gerade diese auch normalerweise, namentlich in Kulturen vorkommenden Zusammenklumpungen warnen zu großer Vorsicht in der Deutung der anscheinend durch Syphilisserum hervorgerufenen Agglutinationen der Treponemen. Es liegen sichere Beobachtungen vor, bei denen Syphilisserum keine Immobilisierung und Agglutination von Treponemen bewirkte, u. a. von Mucha und Landsteiner im Dunkelfeld, auch eigene Beobachtungen (Mühlens). Nach intravenöser Vorbehandlung von Kaninchen, Ziegen und Affen mit reichlichem Spirochätenmaterial ließen sich keine Agglutinine im Tierserum nachweisen (Uhlenhuth und Mulzer). Auch Serum von Kaninchen mit Hodensyphilis agglutinierte nicht. Ebensowenig gelang es, durch intravenöse Vorbehandlung von Ziegen und Affen ein agglutinierendes Serum zu erhalten.

Die Wassermann-Neisser-Bruck'sche **Serumreaktion** ist in ihrem Wesen auch noch nicht derartig sicher genug aufgeklärt, daß man aus ihr auf bestimmte Arten von Antikörpern oder dgl. schließen könnte. Auch herrscht noch keine Einigkeit in der Frage, ob durch die Wassermann'sche Reaktion das Vorhandensein von lebenden Treponemen im Körper bzw. von deren Produkten und welchen angezeigt wird. Neisser hält den positiven Ausfall der Wassermann'schen Reaktion für ein Zeichen noch bestehender Spirochätenanwesenheit. Und Ehrlich sagt, daß die Reaktion im letzten Grunde eine Reaktion des Organismus auf den zur Resorption gelangten Inhalt (Stoffwechselprodukte, Endotoxine) der Spirochäten darstellt. Weil und Braun sind der Ansicht, daß eine Aktivität des Erregers für das Zustandekommen der Reaktion keineswegs notwendig sei. Die durch die Komplementbindung im Serum von Syphilitischen nachweisbaren Stoffe seien Reaktionsprodukte gegen körpereigene Zellbestandteile. Wie dem auch immer sei, jedenfalls läßt sich aber das fast regelmäßige Vorhandensein von gewissen „Stoffen" im Luetikerserum nachweisen, die in Verbindung mit Komplement gegenüber syphilitischen Organextrakten (Antigen) in bestimmter, in ihrer Art noch nicht einwandfrei ergründeter Weise wirksam sind.

Die bisher gegebenen Erklärungen sind vorwiegend hypothetischer Art. Soviel aber ist sicher, daß das Wesen der Reaktion nicht ohne weiteres (wie anfänglich angenommen wurde) mit Komplementbindungsreaktionen zwischen echten Antikörpern und den zugehörigen Antigenen wie bei der Bordet-Gengou'schen Reaktion

zu identifizieren ist. Eigentlich kann man überhaupt nicht von einer für Lues streng spezifischen Reaktion reden, da die Reaktion auch mit Seren von anderen Krankheiten (u. a. Scharlach, Malaria, Lepra, Frambösie, Trypanosomiasis, Rekurrens) zustande kommen kann und ferner auch syphilitische Sera mit Extrakten normaler Organe sowie auch mit Lösungen gewisser anderer Stoffe (Lezithin, Cholestearin, gallensaurer Alkalien, ölsauren Natrons, Seifen) Komplementbindung bewirken. Diese stellen allerdings keinen vollkommenen Ersatz für wässerige Lues-Organextrakte dar. Ferner soll gegen die strenge Spezifität, wie SCHATILOFF und ISABOLINSKY betonen, die Tatsache sprechen, daß die komplementverankernden Stoffe, die in Extrakten aus syphilitischen Organen enthalten sind, dem Gehalte an Spirochäten nicht parallel gehen. „Sie stammen eben offenbar nicht direkt von den Spirochäten, sondern von den veränderten Körpergeweben."

Übereinstimmend wird gleichwohl die Reaktion mit Lues-Organextrakten als für Syphilis ausgesprochen charakteristisch angesehen, deren positiver Ausfall (bei Ausschluß der genannten Krankheiten) im positiven Sinne zur Diagnose verwertet wird, während der negative Ausfall nicht immer mit Sicherheit Lues ausschließt.

FORNET und SCHERESCHEWSKY (1908) hatten eine angeblich charakteristische **Präzipitinreaktion** angegeben: bei Überschichten von Tabes- oder Paralyse- mit Luesserum traten Fällungen auf („Ringbildung"). Verschiedene Nachuntersucher sahen das Phänomen aber auch mit Normalserum.

Von einer Anzahl von Forschern ist versucht worden, bei Syphilis **spezifische Hautreaktionen** ähnlich denen bei Tuberkulose und Typhus auszulösen (MEIROWSKY, WOLFF-EISNER, NEISSER und BRUCK, TEDESCHI, NOBL, NICOLAS, FAVRE und GAUTHIER, JADASSOHN). Als Reagens dienten Extrakte aus syphilitischen Gewebsprodukten (Leber von kongenitaler Lues, Primäraffekte, Condylome usw.). Während einige nur negative Resultate hatten, berichteten andere Forscher über Erfolge. TEDESCHI z. B. hat mit dem wässerigen Extrakt von primären Syphilomen bei Syphilitischen eine schwache Conjunctival- und deutliche Hautreaktion (analog PIRQUET) erzielt. Bei Gesunden und Syphilitischen nach beendeter Quecksilberbehandlung blieb die Reaktion aus; im Verlauf der spezifischen Behandlung nimmt die Stärke ab. NICOLAS, FAVRE und CHARLET berichten über die Darstellung von „Syphilinen": Leber von hereditär luetischen Föten wird im Vakuum getrocknet über Schwefelsäure (die pallidareichsten ausgesucht), mit Quarzsand verrieben, dann hiervon 30 g genommen. 15 Minuten in Glyzerinbouillon (10prozentig) digeriert bei 115°, filtriert, eingedampft bei 65° auf 13 g und in Tuben gefüllt. Dieses Ausgangsmaterial, mit $^1/_3$ Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, wird in Menge von 1 Tropfen in die Haut gespritzt. Angeblich sind mit dieser „Syphilin"-Hautreaktion zum Teil noch bessere Resultate als mit der WASSERMANN'schen Reaktion erzielt worden. — NEISSER und BRUCK fanden aber, daß auch durch konzentrierten Extrakt aus normaler Leber eine ähnliche Reaktion wie durch luetischen Leberextrakt ausgelöst wurde.

Ganz neuerdings bringt NOGUCHI (1911) neue Beiträge zur Hautallergie-Frage. Er stellte sich einen Extrakt aus Pallida-Reinkulturen von experimenteller Kaninchensyphilis her. Diese „reine Pallidasubstanz" nannte er „Luetin" und konnte feststellen, daß mit dem „Luetin" eine spezifische Hautreaktion bei experimenteller Kaninchen- und menschlicher Syphilis zu erzielen war. Während 12 Kaninchen mit florider syphilitischer Orchitis nur schwach reagierten, trat bei 4 Tieren, die mit je 12 intravenösen Injektionen größerer Mengen lebender Kulturemulsionen vorbehandelt und bei vier Tieren, die ähnlich mit abgetöteter Kultur injiziert waren, eine deutliche Reaktion auf: Induration, breites Erythem und gelegentlich Entwicklung von sterilen Pusteln.

Bei sämtlichen an den verschiedensten nicht luetischen Kranken und bei normalen

Individuen angestellten Inokulationen überschritt die Luetinreaktion nicht die Grenze der rein traumatischen Reizung bei der Kontrollinjektion. Die Haut Syphilitischer reagierte dagegen je nach dem Stadium der Krankheit und der Art und Intensität der antisyphilitischen Therapie in verschiedener Weise: die meisten Primärsyphilitiker reagierten nicht; auch nur einzelne manifest Sekundärluetische, die wenig behandelt waren, zeigten deutliche Reaktionen (2 von 12 Untersuchten). Eine weitere Versuchsreihe mit besseren Resultaten betraf Fälle, in denen im Laufe der Behandlung die Sekundärerscheinungen zurückgegangen waren: von 7 mit Quecksilber behandelten gaben 4, und von 30 mit Salvarsan behandelten Fällen gaben 22 „wunderschön ausgebildete pustuläre Hautreaktionen". In der Gruppe der Tertiärsyphilis war in 27 Fällen mit manifesten Tertiärläsionen die Reaktion ausnahmslos positiv. Von den Fällen dieser Gruppe, welche sich unter regelmäßiger Behandlung befunden hatten und keine Läsionen aufwiesen, gaben 19 von 20 mit Quecksilber behandelten und 11 von 12 mit Salvarsan injizierten Fällen eine deutliche Hautreaktion. Hier fügt NOGUCHI hinzu: „Die WASSERMANN'sche Reaktion war in diesen Fällen gewöhnlich sehr schwach oder auch negativ." Auch in manchen der sekundären Fälle stimmten Ausfall der Luetin- und der WASSERMANN'schen Reaktion nicht überein. Ähnlich so verhielt es sich auch bei latenter Lues. Unter 30 latent Luetischen gaben 24 positive Reaktion, die meisten waren Mütter von hereditär luetischen Kindern (Wassermann meist schwach positiv oder negativ). Von 23 hereditär Luetischen zeigten 22 positive und von 10 Fällen von Cerebrospinalsyphilis 5 positive Reaktionen. „In der Parasyphilisgruppe waren die Ergebnisse weniger befriedigend und müssen noch weiter festgelegt werden" (45 von 72 Fällen von Dementia paralytica und 3 von 5 Tabesfällen positiv). — NOGUCHI kommt zu folgenden Schlüssen: „Aus diesen Resultaten läßt sich mit Deutlichkeit ersehen, daß man unter Anwendung reiner Pallidasubstanz („Luetin") bei allen den Organismen, die durch längere Zeit hindurch der Einwirkung der Spirochaeta pallida oder ihrer Stoffwechselprodukte ausgesetzt gewesen waren, eine deutliche, wohlcharakterisierte Hautreaktion hervorbringen kann. Und zwar ist diese so erzielte Reaktion für Syphilis spezifisch." NOGUCHI sagt „hervorbringen kann". Diese Einschränkung scheint allerdings gegenüber den teilweise ungleichmäßigen Resultaten geboten zu sein. Auffallen muß auch die teilweise Inkongruenz mit dem Ausfall der serodiagnostischen Untersuchung. Ob die Reaktion für die Syphilisdiagnose und -prognose die Bedeutung gewinnen wird, die NOGUCHI ihr jetzt schon zuzusprechen geneigt ist, wird die Zukunft lehren.

NOGUCHI berichtet über die Herstellung des „Luetin" folgendermaßen: „Die Reinkulturen (zwei verschiedene Stämme) der *Spirochaeta pallida* wurden verschieden lange, d. h. 5, 12, 24 und 50 Tage hindurch bei 37° C Bruttemperatur unter den nötigen anaeroben Bedingungen fortgezüchtet. Eine Serie dieser Kulturen wurde in Ascitesflüssigkeit, in der sich ein Stück steriler Plazenta befand, eine zweite Serie in Ascitesagar, zu welchem gleichfalls Plazentargewebe hinzugefügt war, gezüchtet. Von den soliden Ascitesagarkulturen wurde dann die untere Hälfte, welche ein starkes Wachstum der Pallidae zeigte, abgeschnitten, das Gewebsstück ausgelöst und diese Agarsäulen, die also unzählbare Pallidaspirochäten enthielten, wurden dann sehr sorgfältig in einem sterilen Mörser verrieben. Ich erhielt so einen dicken Brei, den ich nun allmählich verdünnte, indem ich die flüssige Asciteskultur, die auch enorme Mengen der reinen Pallida enthielt, dazu gab. Diese Verdünnung wurde fortgesetzt, bis die entstandene Emulsion vollkommen leichtflüssig wurde. Sie wurde dann eine Stunde lang auf 60° C im Wasserbade erwärmt und 0,5 prozentige Karbolsäure zugesetzt. Kulturen, welche von dieser Suspension angelegt wurden, blieben ausnahmslos steril; auch konnten Kaninchen nicht mehr mit derselben infiziert werden."

Von dem „Pallidin" bzw. „Luetin" wurden je 0,05 ccm intrakutan injiziert, ebenso zur Kontrolle die gleichen Mengen eines Extraktes aus karbolisierter Nährbodenflüssigkeit.

Conjunctivalreaktionen sind mit spezifischen, aber auch mit normalen Leberextrakten positiv ausgefallen.

Über **Syphilisimmunisierungs-** und **Serumbehandlungsversuche** liegt auch eine große Menge Literatur vor (u. a. in Neisser's letztem großen Werk sehr gut zusammengestellt). Das Resumé derselben ist aber von nur untergeordnetem praktischem Werte. Eine sicher wirkende spezifische biologische Schutz- und Heilmethode kennen wir noch nicht, und es scheint auch nicht allzuviel Hoffnung auf eine solche zu sein, wenn wir die Annahme einer echten Immunität bei Lues fallen lassen müssen. Wir befinden uns da in einem ähnlichen Dilemma wie bei der Immunisierung gegen Trypanosomen-Krankheiten, mit deren Immunitätsverhältnissen die Syphilis manche Analogien zeigt. — Nur einige hervorstechende Daten der Versuche der Vakzination und Serotherapie können hier angeführt werden. Metschnikoff und Roux versuchten es zuerst mit einer Abschwächung des Virus durch Tierpassagen: Sie impften mit einem vom Menschen stammenden Affenpassagevirus einen 79jährigen Mann, gleichzeitig einen Schimpansen und einen Macacus sinicus. Während bei den Affen Primäraffekte entstanden, konnten bei dem Menschen nur „lésions tout à fait insignifiantes" festgestellt werden. Es entwickelten sich an zwei Stellen bräunliche Papeln, die ein Jahr lang persistierten; aber nicht ulzerierten und nicht von Sekundärerscheinungen gefolgt waren. Die Beweiskraft dieses und ebenso eines anderen von Metschnikoff berichteten Falles (anscheinende leichte lokale Lippeninfektion eines Tierwärters von Affenpassage aus) im Sinne einer Virulenzabschwächung wird von Neisser mit vollem Rechte bestritten; denn die beiden Fälle lassen viele naheliegende Einwände zu.

Aus den Untersuchungen anderer (Finger und Landsteiner, namentlich den vielen von Neisser und seinen Mitarbeitern) geht hervor, daß Tierpassagen die Virulenz, jedenfalls für Tiere nicht sicher abschwächen; sehr häufig wurde im Gegenteil eher eine Virulenzerhöhung festgestellt. — Auch Abschwächungen mit physikalischen (u. a. auch Hitze) und chemischen Mitteln sind bisher erfolglos gewesen, ebenso Versuche der Immunisierung mit Filtraten von syphilitischem Material, wie sie schon Metschnikoff und Roux angestellt haben. — Casagrandi und de Luca behandelten sechs Personen durch Skarifikationen und intramuskuläre Injektionen mit Filtraten von Primäraffekten. Dabei entstanden keine örtlichen Impfreaktionen, aber auch keine Immunität. Denn zwei der Leute infizierten sich später mit Syphilis.

Weiterhin gelingt auch eine Immunisierung durch Vorbehandlung mit abgetötetem Syphilisvirus nicht. Und ferner ließ sich keine Immunität mittels subkutaner oder intravenöser Injektion von syphilitischem menschlichem und tierischem Material bei Affen erzielen (Metschnikoff und Roux, Neisser und seine Mitarbeiter, Kraus u. a.). — Immunisierungsversuche mit Mischkulturen sind nicht einwandfrei. Mit Reinkulturen ist bisher noch keine Immunisierung geglückt.

Auch örtliche Immunisierungen bei Affen sind bisher nicht gelungen.

Ebenso wie die Versuche der aktiven sind die der passiven Immunisierung bei den verschiedensten Versuchsanordnungen bei Menschen und Tieren bisher ohne allgemein brauchbares Resultat geblieben.

Von den Ergebnissen Metschnikoff's sei hier eines angeführt. Metschnikoff teilte mit, daß er ein wirksames Serum von Makaken und Pavianen gewonnen hatte, die nach Abheilung des Primäraffekts längere Zeit hindurch mit großen Dosen Syphilisblut (aus floridem Roseolenstadium der Erkrankung) subkutan behandelt waren. Dieses Serum vermochte zwar nicht bei subkutaner Anwendung Schimpansen gegen Infektion zu schützen. In vitro mit Syphilisvirus vermischt, hatte es aber einige Male abtötende Eigenschaften für das Virus, so daß Tierinokulationen damit nicht gelangen. Aus dem getrockneten Serum gewann Metschnikoff ferner ein Trockenpulver,

das infektionsverhütend zu wirken schien, wenn es in 45 Minuten auf die inokulierten Partien gebracht wurde.

Schon lange vor der Entdeckung der Pallida sind bereits Versuche der Immunisierung direkt mit Syphilitikerserum gemacht worden (Lit. siehe bei Neisser, Arch. Dermatol. u. Syph. 1898); ferner auch mit Normalserum und Serum von mit Syphilisblut bzw. -Serum vorbehandelten Tieren. Es wurden neben ungünstigen Resultaten auch einige Erfolge, namentlich in gegen Hg resistenten Fällen gesehen. — Nach Neisser erzeugten Seruminjektionen von syphilitischen Menschen, selbst in großen Mengen, nicht irgendeine Form der Immunität.

Risso und Cipollina glaubten mit therapeutischer Anwendung eines Serums von Hunden, Eseln und Ziegen, die mit menschlichem Syphilisblut subkutan und intraperitoneal vorbehandelt waren, Erfolge namentlich bei tertiärer Lues und Syphiliskachexie erzielt zu haben. Dem Serum waren noch Blutkörperchen der betreffenden Tierart hinzugefügt. — Engel erwärmte Blut von Syphilitikern auf 60° und behandelte damit wochenlang (zwölfmal in sechs Wochen) Kaninchen intraperitoneal. Bei drei Sekundärsyphilitischen wurde dann das Kaninchenserum zu therapeutischen Zwecken subkutan eingespritzt. Dabei soll eine intensive lokale Reaktion aufgetreten sein. Diese beweist aber nichts, da ja die Kaninchen mit Menschenblut vorbehandelt waren. Rückfälle blieben aus (wie lange?). Solche und ähnliche Versuche haben bisher eine allgemein anwendbare Immunisierungsmethode nicht ergeben. Neisser sagt im Jahre 1911 zusammenfassend: „Unsere eigenen Versuche zeigten, daß eine passive Immunisierung bei Syphilis trotz der verschiedensten Versuchsanordnungen ebensowenig gelingt, als die aktive.“ Dieses Resultat ergab sich aus einer großen Reihe von mit unendlicher Mühe und Sorgfalt nach allen denkbaren Richtungen hin vorgenommenen Experimenten Neisser's und seiner Mitarbeiter (Einzelheiten hierüber siehe bei Neisser).

In einem gewissen Gegensatz zu solchen vergeblichen Immunisierungsversuchen an Menschen und Tieren stehen die teilweisen Erfolge der sog. „ätiologischen Therapie“ nach Kraus und Spitzer, über die seit dem Jahre 1905 berichtet ist. Zur Behandlung primärer Syphilis vor Ausbruch der Sekundärerscheinungen wurde eine wässerige Emulsion von Sklerosen hergestellt, von der anfangs je 2 ccm in 200-facher, dann steigend bis zu 40facher Verdünnung subkutan eingespritzt wurden. Im Jahre 1906 berichtete Spitzer über 20 so behandelte Fälle. Von diesen bekamen 11 die üblichen Allgemeinerscheinungen, 7 dagegen blieben völlig frei von Sekundärerscheinungen bei einer Beobachtungsdauer bis zu 2 Jahren. Am sichersten sollen die Erfolge sein, wenn die Behandlung gleich nach Feststellung der Treponemen in der primären Erosion möglichst frühzeitig beginnt. Im Jahre 1909 berichtete Spitzer über weitere Resultate: Unter 10 teils mit homologem, teils mit heterologem Sklerosenmaterial behandelten, von Sekundärerscheinungen frei gebliebenen Syphilitikern bekam einer 2½ Jahre nach der Immunisierung einen frischen Primäraffekt mit typischem Exanthem. Wenn auch gerade dieser letztere Fall viel Beweiskraft zu haben scheint, so muß es doch auffallen, daß von anderer Seite die Kraus-Spitzer'schen Resultate bisher nicht bestätigt werden konnten. Die von Brandweiner, Kren und Kreibich nach der Methode Behandelten bekamen ebenso prompt Sekundärerscheinungen wie Nichtbehandelte.

G. Ätiologische Bedeutung des Treponema pallidum. Diagnose. Differentialdiagnose. Einwände gegen die Pallida und ihre Spezifität.

Während in der ersten Zeit der Pallidaforschung natürlicherweise noch manche kritische Bedenken gegen die ätiologische Bedeutung geäußert wurden, halten jetzt fast alle Syphilidologen und Mikrobiologen die Pallida für den Erreger der Syphilis. Die Beweiskette ist völlig geschlossen, wenn sich die kürzlich veröffentlichten positiven Impfresultate mit Reinkultur bestätigen sollten, woran kaum noch zu zweifeln ist (vgl. S. 417 ff.). Kurz zusammengefaßt gelten als Beweisgründe für die **Spezifität der Pallida** für die Syphilis folgende:

1. Anwesenheit des morphologisch gut charakterisierten Mikroorganismus in den sämtlichen infektiösen Produkten der erworbenen Syphilis aller Stadien, ferner insbesondere auch Nachweis im Blute bei sekundärem Exanthem sowie zum Teil in Organen (Milz); ferner Parallelismus zwischen Parasitenzahl und Infektiosität.
2. Ungeheure Verbreitung im Organismus bei kongenital-syphilitischen Föten und Kindern, insbesondere auch in den am meisten vom Krankheitsprozeß bevorzugten Organen, sowie auch im strömenden Blute.
3. Nachweis in den Impf- und Sekundärprodukten der experimentellen Tiersyphilis, selbst in Organen, insbesondere auch in Passagen.
4. Intime Beziehungen des Mikroorganismus zu den histologischen Veränderungen bei angeborener, erworbener und experimenteller Syphilis, sowie die auf aktives Vordringen hinweisenden Befunde.
5. Übereinstimmung (häufig sogar quantitative) der Treponemenbefunde mit dem Ausfall der WASSERMANN'schen Reaktion bei kongenitaler Lues und auch bei erworbener Syphilis (außer in den frühesten Stadien vor der Generalisierung des Virus).
6. Fehlen des *Treponema pallidum* in den nichtsyphilitischen Affektionen aller Arten.
7. Die spezifische treponematötende Wirkung der organischen Arsenpräparate.
8. Anscheinend gelungene Erzeugung von experimenteller Kaninchensyphilis mit (Misch- und) Reinkulturen der Pallida.

So kann es sich denn unmöglich beim *Tr. pallidum* um einen harmlosen Saprophyten oder Nosoparasiten, um einen regelmäßigen Begleiter ohne spezifische Bedeutung handeln.

Gegen die ätiologische Bedeutung der Pallida wurden namentlich in der ersten Zeit der Pallida-Forschung die folgenden Gründe angeführt:

1. Das Fehlen in vielen, namentlich tertiären und malignen Produkten, ferner gerade in manchen besonders schwer veränderten Geweben. Wie schon ausgeführt (S. 368) besteht die erste Behauptung keineswegs zu Recht, nachdem auch in tertiären Produkten, selbst bei der Aortitis luetica, in deutlichem Zusammenhang mit den Erkrankungsprozessen Treponemen mikroskopisch und tierexperimentell nachgewiesen sind. — Das Fehlen in schwer veränderten Geweben beweist nicht, daß sie nicht da waren und zur Zeit der Untersuchung bereits durch die Gewebsreaktion und Phagozytose eliminiert waren (S. 437).
2. Das häufige Fehlen in GIEMSA-Ausstrichpräparaten gegenüber den Massenbefunden von „Silberspirochäten" in nach VOLPINO-BERTARELLI-LEVADITI versilberten Organen bei kongenitaler Lues usw. Diese von den Anhängern SIEGEL's als „Silber-

spirochäten" bezeichneten Gebilde seien gar keine Organismen, vielmehr normale, durch Alkoholschrumpfung od. dgl. spiralig gewordene Gewebsbestandteile, „durch spezifische Läsion deformierte Gewebsbestandteile" (Siegel), Nervenendfibrillen, elastische Fasern, Kittlinien zwischen den Epithelien u. dgl. Diese Theorien von Siegel, Saling, W. Schulze und Jahnke sind durch eine Reihe von unmittelbar auf diese Behauptung folgenden sorgfältigen Arbeiten (so u. a. von Benda, Blaschko, Buschke und Fischer, Mühlens, Beitzke, Hoffmann, Gierke, Bab, Schmorl u. a.) so gründlich widerlegt worden, daß sich ein Eingehen auf diese haltlosen Anschauungen erübrigt. Daß sich gelegentlich Gewebsbestandteile, namentlich im Gehirn und Rückenmark Nervenfibrillen ähnlich so wie die Pallida-Silberspiralen färben und aussehen, wußte man auch schon vor den Publikationen der Anhänger Siegel's. Vor Verwechslungen mit Nervenfasern u. dgl. wird sich aber jeder kritische Untersucher hüten.

Die Anhänger des Siegel'schen Cytorrhyctes schienen wenig Wert darauf zu legen, daß gerade die ersten Organbefunde von zum Teil vielen Spirochäten in Ausstrichen, nach Giemsa gefärbt, festgestellt waren und daß auch der Nachweis von lebenden Spirochäten aus Organen, aus der Kaninchenhornhaut usw. unschwer gelungen war. — Gewiß wurde auch in der ersten Zeit über häufige negative Befunde in Organausstrichen (selbst bei positivem Schnittbefund) berichtet. Aber das lag, wie die genannten ausführlichen vergleichenden Untersuchungen ergaben, meist an unvollkommener Technik. In Organausstrichen, wenn sie nicht sorgfältig dünn hergestellt sind, werden viele Treponemen verdeckt; ferner ist die Färbung eine langsamere und weniger intensive, weil die vielen Gewebsbestandteile den Giemsa-Farbstoff schnell aufbrauchen. So waren anfangs lange (24 Std.), eventuell mehrmalige Färbungen von dünnen Organausstrichen erforderlich, um die Treponemen nachzuweisen. Am besten macht man dünne Organ-Tupfpräparate (s. p. 372), die man zweckmäßig nach dem Lufttrocknen vor dem Färben 5—10 Minuten in destilliertem Wasser wässert, dann wieder trocknet und färbt, ohne oder mit Fixation (am besten mit Formalin oder über der Flamme). So vorbereitete dünne Tupfpräparate lassen sich auch mit Loeffler-Beize gut färben, wie ich mich kürzlich noch an Leber-Tupfpräparaten überzeugen konnte (Tafel IX Fig. 2). Natürlich darf man sich nicht bei negativem Befund mit der Untersuchung einer einzigen Tupfstelle begnügen. Mitunter beobachtet man in manchen Tupfstellen wenige oder keine und gleich daneben viele Treponemen. Häufig unmöglich ist der Nachweis der „Giemsa-Spirochäte" in Organausstrichen von mazerierten Föten, obwohl sie in Schnitten massenhaft vorhanden sind. Zur Erklärung dieser Schwierigkeit werden chemische Veränderungen der mazerierten Organe angenommen, die die empfindliche Giemsa-Färbung hindern (Klein, Simmonds u. a.). Daß echte Treponemen auch in den mazerierten Föten vorhanden sind, ergaben die Lebend-, namentlich Dunkelfelduntersuchungen sowie positive Tierversuche.

Interessant und aufklärend ist in dieser Hinsicht eine Mitteilung von Simmonds: Ein syphilitisches Mädchen hatte Zwillinge geboren, einen totfaulen Fötus und ein Kind, das sechs Stunden lebte. Bei der totfaulen Frucht fanden sich sehr zahlreiche Spirochäten nach Levaditi im ganzen Körper, aber keine einzige Spirochäte in Giemsa-Präparaten. Bei dem Kind, das gelebt hatte, waren die nach Levaditi in den Organen dargestellten Spirochäten viel weniger zahlreich, und zwar nur an den bekannten Prädilektionsstellen der luetischen Veränderungen, dagegen fanden sich sehr zahlreiche Pallidae in den nach Giemsa gefärbten Organausstrichen. — Befunde von außerordentlich zahlreichen nach „Giemsa" gefärbten Pallidae in Organausstrichen sind sehr häufig von geübten Untersuchern berichtet. (Siehe z. B. die Abbildung Klein's vom Leberausstrich Tafel VIII Fig. 3.) Nicht selten sieht man ganze Spirochätenknäuel aus Organausstrichen. Ich selbst sah solche aus Leber- und

Nebennierenausstrichen. In einer Anzahl von Nebennieren-Tupfpräparaten fand ich auch, nachdem ich zahlreiche Pallidae lebend gesehen hatte, ganz enorm viele „Giemsa-Spirochäten", in manchen Gesichtsfeldern bis 50 Pallidae (siehe Originalzeichnung Tafel VII Fig. 5 und Mikrophotogramm Tafel VIII Fig. 5).

3. Vorkommen von Treponemen, die von der Pallida nicht zu unterscheiden sein sollen, auch in anderen als syphilitischen Affektionen, ferner: Unmöglichkeit der sicheren Abgrenzung gegenüber anderen Spirochäten, auch nicht immer gegenüber Refringens- bzw. Balanitisspirochäten-„Übergangsformen", Karzinomspirochäten und Mundspirochäten, insbesondere *Spirochaeta dentium*. Derartige Ansichten wurden namentlich in der ersten Zeit der Pallidaforschung geäußert, als die meisten Untersucher noch nicht die richtige Übung im sicheren Erkennen der Pallida hatten. Diese Befunde sind teils später als unrichtig zugegeben, zum anderen Teil von autoritativer Seite widerlegt worden. So sind insbesondere die in ulzerierten Karzinomen gefundenen Spirochäten (Kiolemenoglou und v. Cube, Nigris, Scholtz, Krienitz, Loewy u. a.) als „Nicht-Pallidae" erkannt worden, zum Teil von Schaudinn selbst und E. Hoffmann. Schaudinn hat damals auch betont, daß bei keiner anderen Spirochäten-Gattung über zehn enge Windungen erreicht würden. Loewy wies darauf hin, daß sog. Übergangsformen oder „Pseudopallidae" (nach Hoffmann) in nichtsyphilitischen Prozessen an der Oberfläche in meist geringer Zahl im Vergleich zu den daselbst reichlicheren gröberen Spirochäten zu finden seien, während die echten Pallidae reichlich und fast ausschließlich in der Tiefe sitzen. Immerhin ist zuzugeben, daß gerade die feineren „Karzinom"- sowie Mundspirochäten nicht selten eine ausgesprochene Ähnlichkeit mit kleinen Pallidaexemplaren haben können und gefärbt nicht immer sicher, namentlich nicht von atypischen Pallidaexemplaren zu unterscheiden sind. Allerdings ist die Färbbarkeit bei der Pallida eine schwierigere und langsamere (s. früher), während die Rotfärbung (nach Giemsa) auch den ganz feinen Karzinomspirochäten und der *Spirochaeta dentium* zukommt. Mühlens hat in seinen „Vergleichenden Spirochätenstudien" darauf hingewiesen, daß ein der Dentium ähnlicher Spirochätentyp in den meisten jauchigen Prozessen, so auch Karzinomen (vielleicht saprophytisch), vorzukommen pflegt. Die Windungen dieser Spirochäte sind aber allgemein flacher als die bei den typischen Pallidaexemplaren; ferner sind die Spirochäten auch im ganzen kleiner, kürzer und zeigen durchschnittlich weniger Windungen als die Pallida. — Marzinowsky hat als *Spirochaeta pseudoluetica* eine von der Pallida nicht zu unterscheidende Spirochäte bezeichnet, die sich bei einer Scharlachnephritis ohne Lueszeichen im Urin fand. — Über *Spirochaeta gracilis* (Levaditi) siehe S. 413.

Wie schon gesagt, gleicht nicht eine jede Pallida genau der anderen; aber gleichwohl ist man berechtigt, den Mikroorganismus als wohl charakterisiert zu bezeichnen. Nur das Frambösietreponema ist von der Pallida schwerlich zu unterscheiden. Der Typus: Form und Bewegung bei normalen Pallidaexemplaren sind unverkennbar. Selbstverständlich können absterbende oder degenerierte Treponemen von der Normalform abweichen; daneben findet man dann aber auch stets die typischen Individuen. Übergänge zwischen der Pallida und anderen Arten, wie sie z. B. zwischen Refringens- oder Balanitisspirochäten und der Pallida angenommen waren, existieren wohl nur scheinbar. Die früher geäußerten Theorien, nach denen die Refringens und Pallida nicht sicher unterscheidbar oder gar vielleicht verschiedene Formen desselben Mikroorganismus seien (Schütz, Richards und Hunt u. a.), sind ebensowenig begründet wie die, welche einen Zusammenhang der Pallida mit dem Cytorrhyctes luis konstruieren.

Auf einen Punkt sei noch besonders hingewiesen. In geschlossenen, nicht sekundär infizierten syphilitischen Produkten (geschlossenen Hautaffektionen, geschlossenen Primäraffekten, Drüsen, inneren Organen), bildet die Pallida so gut

wie stets den alleinigen Mikroorganismenbefund. Refringensbefunde unter unversehrter Oberhaut gelten als allergrößte Seltenheiten. Als eine solche erwähnen z. B. Neisser und Baermann einen Refringensbefund in einer geschlossenen Drüse. Viele Untersucher weisen aber ausdrücklich darauf hin, daß sie in inneren Organen nie eine Refringens sahen.

Auf die Größen-, Form-, Farb- und Lebend-Unterschiede zwischen Pallida und Refringens ist schon genügend hingewiesen. — Plaut (1909) gibt noch insbesondere an, daß die Differenzierung von Pallida und Dentium mit Tuschedarstellung leichter gelinge als im Dunkelfeld. *Spirochaeta dentium* sei kürzer als die kleinste Pallida, auch dicker und zeige gewöhnlich einen geraden Verlauf. Die Pallida macht einen „eleganteren" Eindruck; Windungen weiter, nach der Peripherie zu manchmal niedriger werdend, an den Enden mitunter lang ausgezogen.

Hier sei nebenbei erwähnt, daß Spirochäten vom **Refringenstyp**. die sog. Balanitisspirochäten nicht nur bei Balanitis erosiva circinata und gangraenosa gefunden und infolge ihres Eindringens in die Tiefe des infiltrierten Gewebes für spezifisch pathogen gehalten worden sind (Berdal und Bataille, Rona, Müller und Scherber, Corbus und Harris u. a.), sondern sie wurden auch in spitzen Condylomen bereits von Schaudinn und Hoffmann regelmäßig (fünfmal) nachgewiesen. Weiterhin sind die Befunde u. a. von Scholtz, Cube und Kiolemonoglou, A. Kraus, Hecht und namentlich Dreyer bestätigt. Dreyer ist auf Grund seiner Beobachtungen, insbesondere von Schnittuntersuchungen, der Ansicht, daß die spitzen Condylome auch infektiös seien und die *Spirochaeta refringens* das Agens darstelle.

Corbus und Harris halten die Balanitis erosiva und gangraenosa auch mit Berdal und Bataille für eine distinkte, die vierte venerische Krankheit, verursacht durch Symbiose eines (von Berdal und Bataille isolierten) Vibrio und einer Spirochäte. Auch in Levaditi-Schnitten lassen sich die Balanitisspirochäten deutlich durch ihre gröberen Windungen und Dicke von den Pallidae unterscheiden, ebenso wie auch z. B. die Hühner- und Rekurrensspirochäten.

Spirochätenbefunde in Levaditi-Schnitten, die ernstliche differential-diagnostische Schwierigkeiten machen könnten, sind nur vereinzelt berichtet, so besonders von Schmorl, der darauf aufmerksam machte, daß die in Schnitten von der Pallida schwer zu unterscheidenden Karzinomspirochäten auch durch den Blutkreislauf (so bei Magenkarzinom) nach anderen Organen transportiert werden und zu Verwechslungen Anlaß geben könnten.

Nach den vorstehenden Andeutungen halten die gegen die Spezifität der Pallida angeführten Gründe der Kritik nicht stand. Und selbst wenn man den Beweis der Syphilisübertragung mit der Spirochäten-Reinkultur noch nicht als endgültig sicher gelten lassen will, drängen die anderen gewichtigen Beweisgründe zu der Ansicht: **Das *Treponema pallidum* ist der Erreger der Syphilis.** — Bekanntlich gelten auch andere Mikroorganismen, bei denen das letzte Postulat — Reinkultur des Erregers und Erzeugung der Krankheit mit demselben — nicht erfüllt ist (z. B. Malariaparasit, Rekurrensspirochäte, Trypanosomen) doch sicher für die Erreger der betreffenden Krankheit.

Der enorme Wert der Pallida-Entdeckung für die Syphilis-**Diagnose** ist ohne weiteres klar. In ganz frischen Fällen kann man meist schon frühzeitig die Diagnose durch Treponemanachweis stellen. Insbesondere ist der Pallidanachweis gerade bei verdächtigen und latenten Affektionen von außerordentlicher Bedeutung. Mühlens berichtete seinerzeit bei den Silberspirochäten-Debatten im Februar 1907 in der Berl. med. Gesellschaft und später ausführlich folgende Beobachtung: In einem eigentlich zur Kontrolle untersuchten, anamnestisch völlig unverdächtigen Fall (Primäraffekt unbekannt, keine Spuren überstandener oder bestehender Infektion nachzuweisen) wurden in einer angeblich nach dem Rudern entstandenen indolenten

Leistendrüsenschwellung ziemlich viele Pallidae regelmäßig bei wiederholten Punktionen (Randpartie) nachgewiesen. WASSERMANN +. Nach Beginn der Sublimatinjektionskur trat plötzlich ein typisches Exanthem auf und gleich in der ersten geschlossenen Hautpapel fanden sich typische Pallidae. Tierimpfungen mit dem Drüsensaft (Kaninchenkornea und von da auf Affe) waren positiv. Nach der dritten Spritze zeigten sich in der Drüse nur noch einige atypische, anscheinend degenerierte Exemplare. Später verschwanden die Spirochäten gänzlich und die Drüse verkleinerte sich. Dieser Fall zeigt die ätiologische Bedeutung, und andererseits geht daraus hervor, daß gerade die Drüsenpunktion unter Umständen zur Feststellung einer latenten Lues außerordentlich wertvoll sein kann (worauf auch HOFFMANN und PREIS besonders hinwiesen). Ein ähnlicher positiver Spirochätenbefund in der Leistendrüse bei einer anscheinend gesunden Mutter, die ein syphilitisches Kind geboren hatte, ist von BUSCHKE und FISCHER berichtet. — Negative Drüsenpunktionsbefunde beweisen allerdings noch nicht mit absoluter Sicherheit das Nichtbestehen einer Drüsen-Lues; dafür spräche schon eher das Fehlen von Treponemen in lückenlosen Serienschnitten einer nach LEVADITI gefärbten verdächtigen Drüse. — Auch eventueller Nachweis in Tonsillar-Abstrichen in Latenzperioden (GUSZMANN und CAMPBELL, KRULLE und HOFFMANN) oder an abgeheilten früheren syphilitischen Stellen könnte diagnostisch wertvoll sein (vgl. auch S. 367). Ferner sind Pallidae im Cervixsekret (GRAEFENBERG) und in Portioerosionen nachgewiesen. Ferner kämen eventuell für die Diagnose noch die Tierversuche in Frage. MÜHLENS (1907) konnte mit einer Drüse eines Passagevirus-Kaninchens, in der sich keine Spirochäten nach GIEMSA nachweisen ließen, nach Einbringen unter die Kaninchenhodenhaut typisch infizieren. Vielleicht ließe sich diese Methode auch bei verdächtigen menschlichen Drüsen ohne Spirochätenbefund anwenden, ähnlich wie das Meerschweinchen zum Tuberkulosenachweis in Drüsen usw. Man würde dann kleine Stückchen aus den Randpartien der Drüsen unter die Kaninchenhodenhaut bzw. in den Hoden oder in die Kornea bringen müssen, ähnlich wie bei Passageimpfungen.

Auch bei anderen unklaren Affektionen kann der eventuelle Pallidanachweis für die Diagnose außerordentlich wertvoll sein, so bei Tumoren und extragenitalen Affektionen (z. B. interessante Beobachtungen von KOWALEWSKI, MINASSIAN, BOTTERI u. a.). In der Literatur ist eine ganze Anzahl solcher Fälle berichtet, in denen falsche Diagnosen durch den Pallidanachweis aufgeklärt wurden und dann die Heilung durch spezifische Therapie möglich war.

Aber auch für diese Fälle ist festzuhalten, daß der negative Befund nicht immer beweisend dafür ist, daß keine Syphilis vorliegt. Eventuell entscheidet dann der Ausfall der Serumreaktion. „Die Domäne der WASSERMANN'schen Reaktion" bleiben gerade die älteren, chronischen und Spätlues-Fälle sowie die postluetischen Erkrankungen.

—

H. Chemotherapie der Treponema-Erkrankungen bei Mensch und Tier.

Die wichtigste Bedeutung der Entdeckung des Syphiliserregers und der gerade im Anschluß daran so erfolgreich gewesenen experimentellen Syphilisforschung und der Serodiagnostik liegt zweifellos auf dem Gebiete der Behandlung und Bekämpfung. Die experimentelle Therapie der Syphilis, deren glänzende Resultate gerade in den letzten Jahren allgemein bekannt sein dürften, bildet wieder ein Spezialfach für sich, das hier

nicht eingehend besprochen werden kann. Die ausführlichen Abhandlungen von Neisser, Uhlenhuth, Levaditi sowie ihrer Mitarbeiter u. a. enthalten alles Wissenswerte über die älteren und neueren Forschungsergebnisse. Bezüglich der Arsen- und namentlich der Salvarsantherapie verweise ich außerdem noch insbesondere auf die Arbeiten Uhlenhuth's und seiner Mitarbeiter sowie auf Ehrlich's Monographie und eine Anzahl anderer zusammenfassender Besprechungen (Wechselmann, Neisser, Mulzer und die Salvarsannummer der D. med. Wochenschr. 1910 Nr. 41[1]) u. a.).

Hier können nur einige biologische Daten, die wichtigsten Literaturangaben über das Verhalten der Treponemen gegenüber den verschiedenen Medikamenten bzw. die Art der Wirkung der Medikamente kurz angeführt werden. Manche Autoren haben eine direkte abtötende Wirkung von **Antisepticis** auf Treponemen im Reagenzglasversuch bzw. unter dem Mikroskop gesehen, so Eitner z. B. von den gebräuchlichen Lösungen von Sublimat, Lysol, Karbolsäure und von 30prozentigem Alkohol; Hertmanni von 3 %-Lösung von essigs. Tonerde, Borsäure, Wasserstoffsuperoxyd, chlorsaurem Kali, 2prozentiger Salzsäurelösung, konzentierter Zitronensäure. Andere dagegen berichten über beträchtliche Resistenz der Treponemen gegenüber desinfizierender Lösungen in vitro.

Gleich in der ersten Zeit der Pallidaforschung wurden von den verschiedensten Seiten Beobachtungen über die **Quecksilberwirkung** auf die Treponemen mitgeteilt, weil man gerade hierin auch einen Grund für die Spezifität suchte. Manche Autoren berichteten eine Abnahme oder völliges Verschwinden der Treponemen infolge der Hg-Behandlung (Joanitzescu und Galaschescu, Wechselmann und Loewenthal, Scholtz, Bodin, Levy-Bing, Pollio und Fontana, Kowalewski, Thalmann u. a). Wechselmann und Loewenthal haben unter Hg-Behandlung eine Auflösung der langen starr gewundenen Exemplare in kurze Einzelindividuen beobachtet.

Nach den Mitteilungen anderer sollte die Pallida, zunächst wenigstens, durch therapeutische Maßnahmen nicht wesentlich beeinflußt werden. Spitzer sowie auch Lipschütz, Rona u. a. fanden die Pallida nicht nur zu Beginn der Behandlung, sondern auch noch gegen Ende der Kur in den Eruptionsstellen oder deren Überbleibseln. Auch Buschke hatte nicht den Eindruck, als ob die Hg-Behandlung in nennenswerter Weise vernichtend auf die Spirochäten wirkt, da diese noch lange Zeit nach Einleitung der Therapie zu finden waren. Nur bei lokaler Behandlung sei eine schnellere Wirkung festzustellen. Rille und Vockerodt sahen bei Psoriasis palmaris einer Hand, mit der zehn Tage lang die Schmierkur ausgeführt worden war, trotz der lokalen und allgemeinen Hg-Applikation noch typische völlig intakte Treponemen. Beer fand noch Treponemen nach Behandlung mit fünf Sublimat-Doppelinjektionen (0,1 $HgCl_2$). Und weiterhin sind noch eine Anzahl ähnliche Befunde in der Literatur niedergelegt. Füresz glaubt, daß trotz allgemeiner und lokaler Behandlung die Pallida in den syphilitischen Produkten noch so lange zu finden ist, wie die Infiltration der syphilitisch veränderten Partien sich konstatieren läßt. Schon früher ist ferner auf die Latenz von Treponemen in Drüsen, auf den Tonsillen, an den Stellen früherer Hautaffektionen usw. hingewiesen (vgl. S. 367). Solche positiven Befunde beweisen natürlich mehr als die negativen nach eingeleiteter Behandlung. Neuber kommt in einer ausführlichen neueren Arbeit (1910) aus der Lesser'schen Klinik zu folgenden Schlüssen: (ähnlich so wie früher schon zum Teil Hauck, Stern, Dohi und Kreibich): Es steht u. a. durch Versuche von Neisser und C. Siebert (eingehende Arbeit) fest, daß Hg in vitro nur in sehr kon-

[1]) Verhandlungen auf der 82. Versammlung Deutsch. Naturf. u. Ärzte in Königsberg 20. September 1910. Vorträge von Neisser, Ehrlich, Alt, Schreiber, Wechselmann, Mickley, Uhlenhuth, Stern, Scholtz u. a.

zentrierter Lösung und nach längerer Einwirkung abtötet; am besten wirkt Sublimatkochsalzlösung, noch in Verdünnung 1:10000 (SIEBERT). Trotzdem gehen im Organismus die Treponemen bei der Hg-Behandlung schließlich zugrunde, obgleich das Hg in einer sehr starken Verdünnung (nach NEUBER etwa 1:1000000) im Blute kreist. Demnach scheint es höchst unwahrscheinlich, daß Hg eine direkt abtötende, desinfizierende Wirkung im Organismus entfaltet, wenngleich auch nicht aus Reagenzglasversuchen unbedingt auf die Vorgänge in vivo geschlossen werden kann. Wie manche andere suchte auch NEUBER dieses Mißverhältnis zu klären, indem er systematisch das Verhalten der Abwehrmittel des Organismus nach Einleitung der Hg-Therapie feststellte: Leukozytenzahl, Titer der „Antikörper“ und des Komplements. Dabei wurde ermittelt, daß alle diese drei Faktoren einige Tage nach Beginn der Hg-Behandlung in erhöhtem Maße produziert wurden.

Demnach kommt NEUBER zu der Erklärung, daß die Hg-Therapie „die Bildung der Schutzstoffe des Organismus günstig beeinflußt“, also gewissermaßen ein Stimulans sei, das die natürliche Widerstandsfähigkeit bzw. Abwehr erhöht. In diesem Sinne sprechen auch u. a. Versuche von JARISCH und STERN, nach denen auch andere Hyperleukozytose auslösende Mittel, z. B. Terpentinsalbe (JARISCH) oder Nucleinsäure (STERN) eine günstige Beeinflussung der syphilitischen Erkrankungen ausübten. STERN erklärt auch die Atoxylwirkung durch Hyperleukozytose.

Die **Jarisch-Herxheimer**'sche **Reaktion** (d. i. Entstehung von neuen Effloreszenzen bzw. Deutlicherwerden der vorhandenen bald nach Einleitung der Hg-Therapie) wird folgendermaßen gedeutet (NEUBER): Zuerst, in den ersten Stadien nach Beginn der Behandlung sei die Tätigkeit der die Syphilis-Immunkörper produzierenden Zellen gelähmt, die Antikörperproduktion herabgesetzt, und dadurch würden die Lebensbedingungen der Spirochäten begünstigt (Vermehrung) und der lokale Prozeß verschlimmert. Mit dieser Theorie könnte man auch die auf S. 446 mitgeteilte Beobachtung von MÜHLENS in Einklang bringen: Bei der latenten Drüsenlues (Infektionsquelle absolut unbekannt) entstand nach Einleitung der Sublimatspritzkur plötzlich ein ausgedehntes Exanthem, ohne daß vorher irgendeine Erscheinung am Körper außer der Drüsenschwellung nachzuweisen war. Pallidae gleich in der ersten untersuchten und in anderen Hautpapeln positiv. Dieser Befund spricht gegen die Theorie von THALMANN u. a. THALMANN hatte schon im Jahre 1906 Beobachtungen über die „hervorragende“ spirochätentötende Wirkung des Quecksilbers mitgeteilt und diese Befunde später noch erweitert: Nach seiner Ansicht sterben die Treponemen unter dem Einfluß des Hg ab; es würden Endotoxine frei, die Hyperämie und Rundzelleninfiltration bedingten: stärkeres Hervortreten von Roseolen und Papeln in den ersten Tagen der Behandlung (HERXHEIMER'sche Reaktion). Die Endotoxine veranlaßten die Entstehung von spezifisch syphilitisch „bakteriziden“ Stoffen. Dadurch entstehe dann die Immunität. Durch die spirochätentötende Wirkung des Quecksilbers würde der Krankheitsprozeß im Anfange der Behandlung verschlimmert (stärkere Heiserkeit, Auftreten von Exanthemen in manchen Fällen von Frühbehandlung, Auftreten von Iritis usw.) Die Todesfälle zu Beginn der Therapie bei kongenitaler Lues werden mit akuter Vergiftung und Überschreitung der Endotoxin-Dosis letalis minima erklärt. (Jodkali könne solche Gefahren im Anfang der Hg-Behandlung verhindern, indem es die Gifte zur Resorption und Ausscheidung bringe.) Der THALMANN'schen Ansicht bezüglich der Deutung der sog. Herxheimer'schen Reaktion stimmten manche andere Forscher bei.

TOMASCEWSKI zieht die THALMANN'sche Theorie zum Beweis des direkten „bakteriziden“ Einflusses des Hg heran. Dafür sprächen insbesondere auch noch die Schnelligkeit und die Intensität der Wirkung je nach der angewandten Quantität des Heilmittels und die Erfahrung, daß Hautrezidive nach Einreibungskuren seltener sind als nach

Pillen- und Injektionsbehandlung, endlich auch noch indirekt der geringe Einfluß der Jodverbindungen auf die spirochätenreichen infektiösen Primär- und Sekundärerscheinungen.

Schließlich sei noch erwähnt, daß z. B. NAGELSCHMIDT, der eine spezifische, allerdings nicht unmittelbare Wirkung des Hg annimmt, glaubt, daß in den chlornatriumhaltigen Gewebssäften des Organismus eine Umwandlung des Quecksilbers in Hg-Albuminat stattfinde, oder daß das Hg an die Körperzellen gekettet würde, wodurch diese einen intensiveren Schutz gegenüber den Spirochäten erhielten. — Aus älteren Versuchen von BEHRING hatte sich ergeben, daß die bakteriziden Eigenschaften einer Hg-Verbindung bei Zusammentreffen mit tierischem Serum stark vermindert werden.

Aus der Gegenüberstellung der Ansichten ergibt sich, daß über die genauere Art der Hg-Wirkung auf die Treponemen noch keine volle Einigkeit und Klarheit herrscht, wenn auch die chemotherapeutischen Studien EHRLICH's bei der Arsentherapie zu der Annahme einer parasitotropen Wirkung der Chemotherapie drängen.

Mit einer solchen Theorie schienen allerdings die Beobachtungen von Fällen nicht in Einklang zu stehen, die auf Hg nicht reagierten, sowie auch z. B. die Mitteilung von OPPENHEIM, daß in einigen allerdings seltenen Fällen, Treponemen von Sublimat, selbst in 1%iger Lösung, in Form und Beweglichkeit nicht beeinflußt wurden. Der scheinbare Widerspruch ließe sich beseitigen, wenn man mit OPPENHEIM die Möglichkeit einer **Quecksilberfestigkeit** von Treponemen im Sinne der EHRLICH'schen Anschauungen annehmen will: Werden die Treponemen nicht durch das Hg in toto getötet, dann können die überlebenden mehr oder weniger quecksilberfest werden (analog der Atoxylfestigkeit bei Trypanosomen). Dabei kann der Grad der Hg-Festigkeit verschiedenen Präparaten gegenüber verschieden sein. — Aus dem Verhalten der Treponemen im Reagenzglas oder im hängenden Tropfen gegenüber Hg können keine Schlüsse auf die Wirkung im tierischen Organismus gezogen werden. Denn nach EHRLICH's Theorie entsteht die endgültige Wirkung einer parasitentötenden Substanz, das wirksame Prinzip, häufig erst im Tierkörper infolge der daselbst eintretenden Veränderungen der chemischen Konstitution (durch Oxydation oder Reduktion).

Die Frage, ob Hg eventuell in allen Stadien der Syphilis gleichartig auf die Treponemen einwirkt, ob im manifesten ebenso wie im Latenzstadium, ob Reinfektion- und Rezidiv-Parasiten leichter oder schwerer zu beeinflussen seien, kann auch noch nicht als gelöst gelten.

Zweifellos muß der von UHLENHUTH für die Arsentherapie der Trypanosomiasis aufgestellte Satz: „so früh als möglich" auch auf die Syphilisbehandlung Anwendung finden. Ob der zweite Teil des Satzes: „soviel als möglich" auch für die Hg-Behandlung der Syphilis stets in Betracht kommt, d. h. also, ob eine sofortige Behandlung mit möglichst großen Dosen der zweifellos weniger gefährlichen Etappenbehandlung mit kleineren Gaben vorzuziehen sei, darüber sind die Akten noch nicht geschlossen. NEISSER meint, daß es vielleicht am besten sei, beide Wege zu kombinieren, also „durch möglichst akute Schläge Parasiten abzutöten und dann durch prolongierte Quecksilberdurchtränkung nährbodenverschlechternd zu wirken", um so eine Vermehrung zu verhindern (Empfehlung der Kombination von Ol. cinereum mit Asurol). Auch von anderer Seite war schon die Frage der **Kombinationstherapie** aufgeworfen worden, so namentlich von UHLENHUTH, E. HOFFMANN und EHRLICH. EHRLICH zeigte bei seinen arsentherapeutischen Studien, daß der Parasit anscheinend isolierte, verschiedenartige Chemorezeptoren hat, die mit verschiedenen therapeutischen Mitteln anzugreifen seien. So könne man den Parasiten von zwei Seiten angreifen und um so sicherer vernichten.

Präventive Wirkung konnte von Quecksilber nicht nur bei der experimentellen Syphilis (allerdings nicht immer) gesehen werden, sondern es werden bekanntlich auch zur Verhütung der menschlichen Syphilis Hg-Präparate angewendet (Sublimatabwa-

waschungen, Calomelsalbe nach Metschnikoff, Neisser-Siebert'sche Desinfektionssalbe, Chem. Werke vorm. H. Byk, Charlottenburg).

Neben der Herxheimer'schen Reaktion beobachtet man nach Quecksilberanwendung, namentlich bei der zweiten oder bei späteren Einspritzungen (nur bei Syphilitikern) Temperatursteigerungen, die ebenfalls durch eine Wirkung der Treponemenzerstörung und Freiwerden von toxischen Stoffen erklärt werden (Thalmann, Neisser, Glaser). Glaser zieht aus dieser Erkenntnis folgende Schlüsse: Wird bei positiver Wassermann'scher Reaktion durch eine Hg-Applikation Fieber hervorgerufen, so müssen Spirochäten im Körper sein. So könne ein derartiges Auftreten von Fieber, ein wichtiges diagnostisches, auf aktive Lues hindeutendes Hilfsmittel namentlich in scheinbaren Latenzzeiten sein und auf die Notwendigkeit der antisyphilitischen Behandlung hinweisen.

Während nach Neisser's Tierversuchen bei der experimentellen Affensyphilis eine präventive **Jodwirkung** möglich und eine heilende sicher zu sein schien, konnte Tomascewski solche nicht feststellen.

Über die Art der Jodwirkung beim Menschen wissen wir auch noch nichts absolut Sicheres. Sie scheint eine mehr indirekte, nicht direkt parasitentötende, sondern eine Wirkung durch Beeinflussung der Gewebsreaktion u. dgl. zu sein (Tomascewski).

Das Endziel einer jeden Therapie ist die Erstrebung einer **Therapia sterilisans magna** im Sinne Ehrlich's, d. h. also einer stets sicheren vollkommenen Vernichtung aller Parasiten, möglichst mit einem einzigen Schlage durch ein stark parasitotrop wirkendes Mittel von geringer organotroper (Gift-)Wirkung. Wie Neisser hervorhebt, ist ein solches Mittel bisher noch nicht gefunden. Immerhin unterliegt es keinem Zweifel, daß wir dem genannten Ziel auf dem Wege der organischen **Arsentherapie** sehr nahe gekommen sind.

Auf die historische Entwicklung der Arsentherapie, die auch früher schon nicht ganz unbekannt war, kann hier nicht eingegangen werden. Als wichtiges Resultat der neueren, tierexperimentellen Studien von Uhlenhuth, Gross und Bickel (1907) verdient zunächst hervorgehoben zu werden, daß erst für die Hühnerspirochätose in dem dreiwertigen Arsenpräparat **Atoxyl** (= Natriumsalz der p-Aminophenylarsinsäure[1]) ein sicher spirochätentötendes, schützendes und heilendes Mittel nachgewiesen wurde (eine Wirkung ähnlich wie bei der Trypanosomeninfektion). Uhlenhuth und Hoffmann stellten dann zusammen mit Roscher, Weidanz und Loehe ähnlich so wie auch A. Neisser und später andere nicht nur eine Heil-, sondern auch Präventivwirkung bei Affen- und Kaninchensyphilis fest; dem folgte dann die therapeutische Anwendung beim Menschen, zuerst in der Lesser'schen Klinik mit ebenfalls günstigen Resultaten. Auch Salmon berichtete wie weiterhin viele andere über gute Heilungsresultate. Uhlenhuth bezeichnete das Atoxyl als ein geradezu „ideales Heil- und sogar Schutzmittel bei der Syphilis der Tiere, das dem Hg weit überlegen ist“. Insbesondere konnten Uhlenhuth und seine Mitarbeiter auch Kaninchen-Augensyphilis in größeren Versuchsreihen verhüten, am besten durch Hg-Atoxyl. Präventive Wirkung beim Menschen wurde von Metschnikoff, Salmon und Hallopeau festgestellt. Uhlenhuth wies darauf hin, daß gerade durch den präventiven Erfolg die spezifische Wirkung bewiesen werde. — Im Juni 1907 schlug Uhlenhuth die Kombination von Hg und Atoxyl für die Behandlung der Lues vor. Ein neues Präparat „atoxylsaures Hg“ zeigte bei Hühnerspirochätose, Rattenrekurrens, Kaninchen-Hornhaut- und -Hodensyphilis besonders gute Resultate, eine spezifische Wirkung auf Spirochäten; bei der Syphilis wurden in erster Linie gerade die Gewebe beeinflußt, die massenhaft Spirochäten

[1]) Konstitution von Ehrlich erkannt.

„in Reinkulturen" enthielten. Auch beim Menschen wurden mit atoxylsaurem Hg beachtenswerte Erfolge erreicht (Brandenburg, Lesser, Mickley, Blaschko, Fabry u. a.).

In der Folge erwiesen sich auch andere organische Arsenpräparate, das dreiwertige[1]) Arsazetin und das fünfwertige[1]) Arsenophenylglyzin (Ehrlich) wirksam, wie u. a. auch aus den tierexperimentellen Prüfungen Neisser's hervorging. Während Neisser den anorganischen Arsenpräparaten höchstens eine symptomatische Wirkung zuspricht, konnte er für die organischen Arsenpräparate auch einen spezifisch Spirochäten tötenden Einfluß nachweisen. Insbesondere erwies sich das **Arsenophenylglyzin** von unzweifelhafter Heilwirkung bei der tierexperimentellen Syphilis. Ebenso wie nach Atoxylbehandlung gelang es nicht mehr, mit dem Milz-Knochenmarkbrei von behandelten Tieren Syphilis zu erzeugen.

Auch über günstige therapeutische Resultate mit den genannten organischen Arsenverbindungen beim Menschen liegen viele Berichte vor, so namentlich auch in solchen Fällen, die gegenüber der Hg-Therapie versagt hatten, bei pustulösen und ulzerösen Formen der Frühperiode, ferner bei tertiärer und maligner Lues usw. Neisser sagte bezüglich des Ehrlich'schen Arsenophenylglyzins: „Ich glaube demgemäß den Schluß ziehen zu dürfen, daß wir in dem Arsenophenylglyzin ein für eine gewisse Gruppe von Kranken verwertbares und wertvolles Heilmittel der Syphilis bekommen haben."

Aber leider stellten sich der allgemeinen Anwendung von Atoxyl und Arsenophenylglyzin in der menschlichen Luestherapie bedenkliche Hindernisse entgegen, hauptsächlich (außer Rückfällen) in der Gestalt der beobachteten Arsenintoxikationen. Das neuere, von Ehrlich und Hata (1910) nach reichlicher tierexperimenteller Prüfung in die Therapie eingeführte, auf Grund genialer Überlegungen synthetisch hergestellte organische **Arsenpräparat „606"** = Dioxydiamidoarsenobenzol, „**Salvarsan**" genannt, ebenfalls ein fünfwertiges Präparat, ist bei ebenso sicherer bzw. noch besserer Wirkung wesentlich ungefährlicher. Zwar sind auch unter den unzähligen, nach dem Vorgange von Alt, Schreiber und Hoppe mit Salvarsan behandelten Syphilisfällen einige Arsenintoxikationen vorgekommen, namentlich in der ersten Zeit. Aber im allgemeinen scheinen sich derartige Zufälle bei Anwendung der durch die gemachten Erfahrungen gebotenen Vorsichtsmaßregeln und Beachtung der Gegenindikationen vermeiden lassen zu können. U. a. ist auch bei kongenitaler Lues (mit reichlicher Infektion) Vorsicht geboten. Ehrlich warnt direkt davor. Todesfälle sollen hier durch die Wirkung der aus den vielen im Organismus wuchernden Treponemen plötzlich auf einmal unter Salvarsaneinfluß freiwerdenden großen Endotoxinmengen bedingt sein (Ehrlich).

Aus der unübersehbaren Menge von Berichten über die Behandlung mit Atoxyl, Arsenophenylglyzin und namentlich Salvarsan geht mit Sicherheit hervor, daß eine Syphilis**heilung** mit dieser neueren Therapie zweifellos möglich ist, nicht nur im Tierexperiment, sondern auch beim luetischen Menschen in allen Stadien (beobachtete Reinfektionen). Die Wirkung der Präparate wird nach den zahlreichen Beobachtungen bei Menschen und Tieren für eine spezifisch parasitentötende gehalten. Die Vernichtung der Treponemen erfolgt meist in den ersten Tagen bei ausreichender Dosis in 24—48 Stunden (Ehrlich) nach Einleitung der Therapie schnell und prompt; in manchen Fällen langsamer, erst nach mehreren Tagen. Einige Autoren (u. a. Balfour, Pokrowsky) wollen einen körnigen Zerfall der Treponemen (Dauerformen nach Balfour) unter Salvarsaneinwirkung gesehen haben. Nach anderen (Wechselmann u. a.) werden die Treponemen nach 24—48 Stunden träger, plumper, quellen

---

[1]) Den Unterschied zwischen den dreiwertigen gesättigten und fünfwertigen ungesättigten besser wirksamen und weniger giftigen Arsenverbindungen hat Ehrlich erkannt.

und zerfallen. — Nach Lesser könnte auch eine organotrope Wirkung in Frage kommen. Auch Buschke hält die 606 = Wirkung für organotrop. Der zugleich für die Erregernatur des *Treponema pallidum* sprechenden Tatsache der spezifischen Salvarsanwirkung widersprechen nicht einzelne Mitteilungen, in denen ein Ausbleiben des Erfolges mitgeteilt wird: Daß aus Reagenzglasversuchen nicht auf die treponematötende Wirkung im Körper geschlossen werden kann, ist schon bei der Hg-Therapie betont. Resultate, wie z. B. von Fränkel und Grouven mitgeteilt, daß Treponemen noch lange nach Salvarsaneinspritzung in manifesten Erscheinungen gefunden wurden (2 Monate später in einer Gesichtspapel) können auch zwanglos erklärt werden: Es kann sich in solchen Fällen um ungenügende oder unzweckmäßige Dosierung und somit unvollkommene Wirkung gehandelt haben; oder aber auch um Rezidive, deren Vorkommen in einer nicht geringen Prozentzahl selbst von Salvarsanfällen noch nicht mit Sicherheit zu vermeiden ist. Schließlich müßte man auch noch mit der Möglichkeit einer „**Arsenfestigkeit**" der Treponemen rechnen. Umfangreiche Untersuchungen hierüber liegen noch nicht vor. Rothermundt und Dale zwar glauben auf Grund ihrer experimentellen Untersuchungen bei Hühnerspirochäten eine Arsenfestigkeit der Syphilisspirochäten durch länger dauernde Arsenkuren (intermittierende Salvarsanbehandlung nach Kromayer) nicht befürchten zu müssen. (Vgl. auch bei Gonder, Spirochäten.)

Wenn auch durch zahlreiche Tierexperimente festgelegt ist, daß die organische Arsentherapie, insbesondere die Ehrlich'sche Salvarsantherapie die Treponemen selbst in klinisch und pathologisch-anatomisch latenten Herden beseitigen kann, so ist damit nicht behauptet, daß diese totale Beseitigung in allen Treponema-Depots stets geschieht. Beim Menschen läßt sich das nicht so einfach wie im Tierversuche durch Überimpfung von Organen, Reinokulationen u. dgl. nachweisen. Die Frage der sterilisatio magna bedarf — darüber läßt auch Ehrlich keinen Zweifel — noch in mancher Hinsicht der Erweiterung, namentlich bezüglich der Art- und Mengenverhältnisse der Anwendung.

Gleichwohl müssen auch selbst die größten Skeptiker zugeben, daß vor allem in der Salvarsantherapie Erfolge erzielt sind, die wir vor einigen Jahren für ein Ding der Unmöglichkeit gehalten hätten. Insbesondere sind sie außer bei der Behandlung der Hg-resistenten Fälle und schwerer tertiärer Lues auch noch in **Abortivkuren** zu suchen, eventuell (nach den günstigen Erfahrungen besonders von Arning an großem Material) in Kombination mit Hg-Behandlung. Auch andere hatten wie Neisser schon wiederholt darauf hingewiesen, daß „der Hauptschwerpunkt auf eine präventiv-abortive Therapie zu legen" sei. Tierexperimentelle Studien haben ergeben, daß die abortive Behandlung viel leichter und im Enderfolg sicherer ist, als die Therapie der ausgesprochenen Krankheit. In dieser Hinsicht ist es von großer Bedeutung, daß Neisser an Affen nachweisen konnte, daß in vielen Fällen längst vor irgendwelchen sichtbaren primären Erscheinungen bereits die Allgemeinverbreitung des Virus durch den Körper vollzogen war. „Es spricht alles dafür, daß die Generalisierungsverhältnisse beim Menschen ebenso, sogar noch ungünstiger liegen als beim Affen. Abwarten des Primäraffekts heißt also eigentlich immer Zeit und zwar die für den therapeutischen Erfolg günstigste versäumen." Für die Frühdiagnose ist bekanntlich der Treponemanachweis das einzige sichere Hilfsmittel, während die Wassermann'sche Reaktion mehr für die späteren, insbesondere latenten Stadien ein Hauptdiagnostikum bildet; ferner liegt ein Hauptwert in der Beurteilung der therapeutischen Erfolge durch den Ausfall der Reaktion. Etwa bei 80—90% der mit Salvarsan behandelten Fälle wurde die positive Reaktion im Anschluß an die Behandlung bald negativ. Wiederholte Untersuchungen haben später darüber zu wachen, daß sie auch negativ bleibt. — Bei Primäraffekten ist nicht selten beobachtet worden, daß infolge der „606"-Therapie

eine negative WASSERMANN'sche Reaktion in positive umschlug. EHRLICH erklärt dies so: Die Zahl der Spirochäten war zu klein, um zunächst eine positive Reaktion auszulösen. Bei der durch „606“-Behandlung erfolgenden Auflösung der Spirochäten wird die Gesamtmenge der Endotoxine frei und gelangt zur Resorption. Daraus resultiere dann die positive Reaktion. So könne in zweifelhaften Fällen eine Injektion von „606“ von differentialdiagnostischer Bedeutung sein. Ein Positivwerden der WASSERMANNschen Reaktion nach einer solchen beweist, wie WECHSELMANN hervorhob, den syphilitischen Charakter der Affektion.

Hier sei zum Schluß noch eine interessante Beobachtung erwähnt, daß bei kongenital syphilitischen Kindern, die von mit Salvarsan behandelten Müttern gestillt wurden, die sichtbaren Erscheinungen und auch die Kachexie verschwanden (TAEGE, DUHOT, DOBROWICZ, SCHOLTZ, RAUBITSCHEK u. a.). Als Ursache dieser Wirkung wird die Entstehung von heilenden lytischen „Antistoffen“ — als Reaktionsstoffe durch die aus den Parasitenleibern freigewordenen „Endotoxine“ veranlaßt — im Serum der Mutter angenommen, die durch die Milch auf den Säugling übergehen. TAEGE und DUHOT konnten kein organisches Arsen in der Milch nachweisen, während SCHOLTZ 48 Stunden nach der Injektion minimale Mengen (weniger als $^1/_{10}$ mg) fand. MEIROWSKY und HARTMANN, MARINESCO, PLAUT, SCHOLTZ und L. MICHAELIS sahen ähnliche günstige therapeutische Effekte nach subkutaner Anwendung des Serums von mit „606“ behandelten Müttern bei luetischen Kindern. PEISER, ROSENTHAL und ESCHERICH hatten keine günstigen Resultate bei dieser Behandlungsmethode. — JESIONEK (1911) empfahl, syphilitischen Kindern Milch von mit Salvarsan gespritzten Ziegen oder Kühen zu geben; Erfolge besser als durch Salvarsan-Muttermilch.

Von vielen Seiten ist über Beobachtungen bezüglich der HERXHEIMER'schen Reaktion bei Salvarsanbehandlung berichtet: Manche sahen sie regelmäßig, andere weniger häufig oder ganz selten auftreten. Während manche Autoren der THALMANNschen Deutung bezüglich der Ursache der Reaktion beistimmen (S. 449), glauben EHRLICH, IVERSEN, WECHSELMANN u. a. annehmen zu müssen, daß die Reaktion nur dann auftritt, wenn die Arsenobenzol-Dosen zu klein waren, um eine vollständige Treponemenabtötung im Körper herbeizuführen. Sie halten die Reaktion für den Ausdruck einer Reizerscheinung auf die Treponemen, ein signum mali ominis bezüglich Rezidivgefahr. Auch HERXHEIMER hatte in ähnlicher Weise im Jahre 1910 das sehr häufige Fehlen des reaktiven Hautausschlags damit erklärt, daß das Salvarsan alle Treponemen tötet, während durch das Hg nur ein Teil der Treponemen vernichtet wird, durch deren freiwerdende Endotoxine die Reaktion bedingt würde. Dieser Theorie widersprechen aber Erfahrungen, nach denen die Reaktion auch nach Anwendung von großen Dosen „606“ auftritt (GENNERICH, GROUVEN, KALB u. a.).

FRAENKEL und GROUVEN glaubten, die Reaktion mit einer Reaktion der Haut bzw. des Gefäßtonus auf die freiwerdenden Toxine erklären zu können. KALB wies im Jahre 1911 an der HERXHEIMER'schen Klinik auf die große Ähnlichkeit der Art und der histologischen Vorgänge der Reaktion mit den bei Lupus durch Tuberkulininjektion veranlaßten Erscheinungen hin. Wenn zwar auch nicht die Hg- bzw. „606“-Behandlung direkt der Tuberkulin-Injektion parallel zu setzen sei, so müsse man doch die durch die beiden Prozeduren veranlaßten sekundären Vorgänge (die bei Lues in der Spirochätenabtötung ihren Höhepunkt erreichen) gleichstellen. Daher wird für beide Reaktionen ein ähnlicher Mechanismus vermutet. Bezüglich dieses weicht KALB's Auffassung etwas von der THALMANN'schen ab: KALB sieht in der Reaktion „die Resultante der Wirkung der vielleicht ungiftigen Spirochätenbestandteile und des in seiner Reaktionsfähigkeit veränderten luetischen Organismus (Allergie, Pirquet)“ also eine Veränderung des Organismus, wie sie schon u. a. von FINGER, LANDSTEINER und JADASSOHN angenommen wurde.

Aus den vorstehenden summarischen Betrachtungen ergibt sich, daß zwar die ideale **Therapia sterilisans magna** im Sinne EHRLICH's für die menschliche Syphilis noch nicht endgültig erreicht ist. Aber wir haben uns diesem Ziel zum mindesten um ein Bedeutendes genähert. Die Entwicklung der so überaus segensreichen modernen Arsentherapie der Lues ist nicht etwa das Ergebnis von glücklichen Zufallstreffern. Sie ergab sich vielmehr aus einer Kette von mühsam errungenen Arbeitserfolgen vieler genialer Forscher der verschiedensten Spezialgebiete. Gerade dem Hand-in-Hand-Arbeiten von Biologen, Klinikern, Experimentatoren auf tierexperimentellem und chemischem Gebiet ist der bisher in seiner Art einzig dastehende Enderfolg zu verdanken, der durch die Entdeckung des Syphiliserregers möglich wurde.

Abgeschlossen im Dezember 1911.

Literatur.

In dem Verzeichnis sind nur die Arbeiten angeführt, auf welche im Text ausdrücklich Bezug genommen wurde. Bezüglich der übrigen Literatur sei auf die mit einem * bezeichneten Arbeiten verwiesen, die größere Literaturzusammenstellungen enthalten. Die Titel der zitierten Arbeiten sind zum Teil im Literaturverzeichnis abgekürzt. Ältere Literatur siehe insbesondere bei HOFFMANN 157.

1 ALT, K., „606"-Behandlung der Syphilis. Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 11. Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 41.
2 ARNHEIM, Kulturversuche der Spirochaete pallida. Dermatol. Zentralbl. 1909. Bd. 12. S. 290.
3 ARNING, E. u. KLEIN, C., Praktische Durchführung des Nachweises der Spir. pall. im großen Krankenhausbetriebe. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 37.
4 ARNING, E., Neue Anwendungsweise der von Siedentopf angegebenen Dunkelfeldbeleuchtung. Ärztl. Ver. Hambg. 1. X. 1907. (Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1907 Nr. 50.)
5 Derselbe, Ärzte-Verein Hamburg 11. IV. 1911. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 17.)
6 Derselbe, Abortivkuren der Syphilis durch kombinierte Quecksilber-Salvarsan-Behandlung. Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 39.
7 BAB, H., Spirochätenbefunde im menschlichen Auge. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 48.
8 Derselbe, Nerv- oder Mikroorganismus. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 7.
9 Derselbe, Bakteriologie der kongenitalen Syphilis. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 46.
10 Derselbe, Bakteriologie und Biologie der kongenitalen Syphilis. Zeitschr. f. Geburtsh u. Gynäkol. 1907. Bd. 60. H. 2.
11 Derselbe, Problem der Luesübertragung auf das Kind und die latente Lues der Frau im Lichte der modernen Syphilisforschung. Zentralbl. f. Gynäkol. 1909. Nr. 15.
12 BABES u. PANEA, Spir. pall. bei kongenitaler Syphilis. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 28.
13 BABES, V. u. MIRONESCU, TH., Syphilome innerer Organe Neugeborener. Berl. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 34.
14 BAERMANN, G., Zur subkutanen Syphilisimpfung niederer Affenarten. (Sekundäre Erscheinungen.) Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 30.



15 BAISCH, Vererbung der Syphilis auf Grund serologischer und bakteriologischer Untersuchungen. Deutsche med. Wochenschr. 1909. Nr. 38.
16 BALFOUR, A., Wirkung des Salvarsans auf Treponema pallidum. Brit. med. Journ. 1911. Nr. 2629.
17 BALLENGER, New method of staining motile organisms, renal tube casts and fixed smears of Spirochaete pallida. Journ. of the Americ. med. Ass. Vol. LIII. 1909. Nr. 20
18 BANDI u. SIMONELLI, Spir. pallida u. Färbungsmethoden. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 35 u. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 40. 1905. H. 1.
19 Dieselben, Zellenparasitismus bei Syphilis. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 41. 1906. H. 5.
20 BARACH, Chinesische Tusche beim Spirochätennachweis. Journ. of Americ. med. Ass. 1910. 26. Nov.
21 BARANNIKOFF, J., Versilberung von Spirochaete pallida. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 50. 1909. H. 2.
22 BAUER, J., Das COLLES'sche und PROFETA'sche Gesetz im Lichte der modernen Syphilisforschung. Wien. klin. Wochenschr. 1908. Nr. 36.
23 BEER, A., Beobachtungen an der lebenden Spir. pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 33.
24 Derselbe, Wert der Dunkelfeldbeleuchtung für die klinische Diagnose der Syphilis. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 39.
25 BEITZKE, H., Spir. pall. bei angeborener Syphilis. Berl. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 24.
26 Derselbe, Knötchenförmige syphilitische Leptomenigitis. Virchows Arch. 1911. Bd. 204. H. 3.
27 BENDA, C., Spirochätenbefund bei Lues III. Demonstr, Berl. med. Ges. 4. VII. 1906. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 32.
28 BENDA, C., Levaditifärbung der Spirochaete pallida. Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 15 u. 16.
29 BERDAL et BATAILLE, Sur une variété de balanoposthite inoculable contagieuse parasitaire. La balanoposthite érosive circinée. La médic. moderne. 1891. p. 340.
30 BERG, J., Nachweis der Spir. pallida durch vereinfachtes Tuscheverfahren. Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 20.
31 BERGER, Färbung der Spir. pallida. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 18 u. 25.
32 Derselbe, Kenntnis der Spirochaete pallida. Dermatol. Zeitschr. 1906. Bd. XIII. Nr. 6.
33 BERING, F., Fall von Reinfectio syphilitica. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 18.
34 BERTARELLI, VOLPINO u. BOVERO, Spir. pallida SCHAUDINN bei Syphilis. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1905. Bd. 40. H. 1 sowie Rivista d'igiene e san. publ. 1905. Nr. 16.
35 BERTARELLI, E. e VOLPINO, Sulla Spir. pall. nella sifilide. Ber. an die R. Acad. di Med. 16. VI. 1905. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Ref. 1906. Bd. 37.)
36 BERTARELLI, Transmission der Syphilis auf Kaninchen. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 41. 1906. H. 3.
37 Derselbe, Transmission der Syphilis auf Kaninchen. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 43. 1907. H. 2 u. 3.
38 BERTARELLI, E. u. VOLPINO, G., Spirochaete pallida in den Schnitten primärer, sekundärer und tertiärer Syphilis. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1906. Bd. 41. S. 74.
39 BERTARELLI, E., Spir. pallida u. Osteochondritis. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1906. Bd. 41. H. 6.
40 Derselbe, Empfänglichkeit der Fleischfresser und der Wiederkäuer für experimentelle Syphilis. Deutsche Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1907. Nr. 3. S. 155 und Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 43. 1907. H. 8.
41 Derselbe, Immunisierung des Kaninchens gegen Hornhautsyphilis. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1908. Bd. 46. H. 1.
42 BLASCHKO, Spirochaete pallida und ihre Bedeutung für den syphilitischen Krankheitsprozeß. Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 12.
43 BORDET et GENGOU, Soc. roy. des sciences méd. de Bruxelles. Sitzung 1. V. 1905. Bull. Jg. 63. Nr. 5. p. 124 u. Presse méd. Belge. 1905. p. 614.

44 Borrel et Burnet, Diagnostic rapid des lésions syphilitiques. Compt. rend. Soc. biol. 1906. Bd. 60.
45 Botteri, Fall von Sklerose der Plica semilunaris und des Tarsus mit Spirochätenbefund. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1909. S. 425.
46 Brandweiner, Immunisierung bei Lues. Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 45 u. 48.
47 Brönnum u. Ellermann, Kongenitale Syphilis u. Spirochaeta pallida. Hospitalstidende. 1905. Nr. 29 u. 39. — Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 44.
48 *Bruck, C., Serodiagnostik. Arb. d. Kais. Gesundheitsamts. 1911. Bd. 37. S. 345.
49 Bruckner, J. u. Galasesco, P., Orchite syphilitique chez le lapin par cultures impures de spirochètes. Compt. rend. Soc. de Biol. 1910. T. 68. p. 684.
50 Burri, R., Das Tuscheverfahren. G. Fischer, Jena. 1909.
51 Buschke, A. u. Fischer, W., Sp. pallida in inneren Organen eines syphilitischen Kindes. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 20 u. 21.
52 *Dieselben, Beziehungen der Sp. pall. zur kongenitalen Syphilis. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 82. H. 1.
53 Dieselben, Weitere Beobachtungen über Spir. pall. Berl. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 13.
54 Dieselben, Myocarditis bei Lues hereditaria mit Spirochätenbefund. Deutsche med. Wochenschr. 1906. S. 752.
55 Dieselben, Infektiosität der malignen und tertiären Syphilis. Med. Klinik. 1906. Nr. 38.
56 Buschke, A. Spirochäten bei Syphilis. VI. intern. Dermatol.-Kongr. New York 1907. Sept.
57 Buschke u. Fischer, Sogenannte Syphilisimmunität und syphilitische Hodeninfektion bei Affen. Berl. klin. Wochenschr. 1909. Nr. 15.
58 Buschke, A., Klinische und experimentelle Beobachtungen über Syphilis maligna nebst einigen Bemerkungen über 606. Berl. klin. Wochenschr. 1911. Nr. 1.
59 Campbell, The Spirochaeta pallida, its relation to the tonsil. Journ. of the Americ. med. Ass. Vol. LIV. 1910. No. 20.
60 Casagrandi, O. e de Luca, Se nei filtrati di manifestationi sifilitiche ottenuti attraverso caudele Berkefeld etc. Ann. d'igiene sperim. u. ser. 1906. Vol. 16.
61 Chirivino, Übertragung von syphilitischem Virus auf Kaninchen. Rif. med. 1909. Nr. 26.
62 Chitrowo, A. A., Nachweis der Spirochaete pallida in Ausstrichpräparaten. Russky Wratsch. 1909. Nr. 26.
63 Corbus and Harris, Erosive and gangrenous balanitis — the fourth venereal disease. Journ. of the Americ. med. Ass. Vol. LII. 1909. No. 19.
64 Csillag, Spirillen bei Balanoposthitis. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1898. Bd. 46. S. 150.
65 *Danziger, F., Spirochätenbefunde bei hereditärer Syphilis. Dissertation Leipzig. 1906.
66 Davidsohn, C., Spirochätenfärbung mit Kresylviolett. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 31.
67 Dobrovits, M., Heilwirkung von „606" durch die Mutter auf den Säugling. Wien. med. Wochenschr. 1910. Nr. 38.
68 Dohi u. Tanaka, Japan. Zeitschr. f. Dermatol. u. Urol. 1906. Vol. 1.
69 Dohi, Spirochaete pallida im Gewebe. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 44. 1907. H. 3.
70 Derselbe, Einfluß von Heilmitteln der Syphilis (Quecksilber, Jod, Arsen) auf die Immunsubstanzen des Organismus (Hämolysine, Agglutinine und Präzipitine). Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 1909. VI. Bd. H. 1. S. 171.
71 Donné, A., Recherches microscopiques sur la nature des mucus et de la matière des divers écoulements des organes génitourinaires chez l'homme et chez la femme. Paris 1837.
72 Doutrelepont, Spirochäten bzw. Spir. pallida. Sitzungsber. d. Niederrh. Ges. f. Natur- u. Heilk. Bonn. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1905. u. 1906.
73 Doutrelepont u. Grouven, Nachweis von Spir. pallida in tertiär-syphil. Produkten. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 23 u. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 16. S. 659.
74 Doutrelepont, Lange Spirochäten in Ascitesflüssigkeit. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 22.
75 Dreyer u. Toepel, Sp. pall. im Urin bei syphilitischer Nephritis. Dermatol. Centralbl. 1906. Bd. IX. Nr. 6.
76 Dreyer, A., Spirochätenbefunde in spitzen Condylomen. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 18.

77 DUDGEON, L., Spir. pallida in syphilitic lesions. Lancet 1906. 10. März. No. 4306. p. 669.
78 DUHOT, R., Unerwartete Resultate bei einem hereditär-syphilit. Säugling durch die Behandlung seiner stillenden Mutter mit „606". Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 35.
79 EHRLICH, H. u. LENARTOWICZ, J. T., Färbung der Spirochaete pallida. Wien. med. Wochenschr. 1908. Nr. 18.
80 EHRLICH, P. und HATA, S., Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen. Berlin, J. Springer, 1910.
81 Derselbe, Abhandlungen über Salvarsan. München, J. F. Lehmann, 1911.
82 EHRLICH, P., Salvarsantherapie. Rückblick und Ausblick. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 1.
83 EHRMANN, Demonstration. Wien. Dermatol. Ges. 24. I. 1906. Ref. Arch. f. Dermatol. Bd. 81. S. 407.
84 EHRMANN, S., Sp. p. in den Nerven des Präputiums bei syphil. Initialsklerose. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 28.
85 Derselbe, Peri- u. Endolymphangitis syphilitica, eine 2. Mittlg. zur Pathologie d. Initialsklerose. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 81.
86 Derselbe, Phagocytose und Degenerationsformen der Spir. p. im Primäraffekt u. Lymphstrang. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 27.
87 Derselbe, Beziehungen der Sp. p. zu Lymph- u. Blutbahnen; Phagocytose im primären u. sekundären Stadium. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 44. 1907. H. 3.
88 EITNER, E., Beobachtungen an der lebenden Spir. pallida. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 16.
89 ENGEL, C. S., Beitrag zur Serumbehandlung der Syphilis. Berl. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 42.
90 ENTZ, B., Sp. pallida bei kongenitaler Lues. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 81. S. 79.
91 ENTZ u. FELDMANN, Spiroch. pallida. Orvosi Hetilap. 1906. 20. I.
92 ESCHERICH, Sitzg. d. Ges. f. innere Mediz. u. Kinderheilkunde Wien. 20. X. 1910. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 44.)
93 FAROY, G., Le pancréas et la parotide dans l'hérédosyphilis du fœtus et du nouveau-né. Thèse de Paris. 1909.
94 FIEUX u. MAURIAC, Transmission mortelle au fœtus d'une syphilis postconceptionnelle tardive. Ann. de gyn. et d'obst. 1908. Dez.
95 FINGER u. LANDSTEINER, Syphilis an Affen. Aus d. Sitz.-Ber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. Mathem.-naturwissenschaftl. Klasse. 1905. Bd. 114. Abt. 3. Ref. Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 38. S. 123.
96 Dieselben, Syphilis an Affen. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 81. S. 147.
97 FINGER, E., Die neuere ätiologische und experimentelle Syphilisforschung. Wien. med. Presse. 1906. Nr. 18.
98 FINGER, E., Mitteilungen über Lues-Immunität. IX. Kongr. d. D. Ges. in Bern. 12. IX. 1906.
99 FINGER, E., Errungenschaften auf dem Gebiete der Syphilidologie. Wien. klin. Wochenschr. 1908. Nr. 1.
100 FLEXNER, S., The etiology of syphilis. The medic. News. Dez. 1905.
101 FLEXNER, Journ. of experim. Med. 1907. Vol. IX. Nr. 4.
102 FLÜGEL, K., Spirochätenbefunde bei Syphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 44.
103 FONTANA, A., Contributo allo studio della sifilide corneale del coniglio. Rivista d'Igiene e sanita-publica. 1907. No. 21. p. 646.
104 FOREST, Morphologie der Sp. pallida. Centralbl. f. Bakt. 1906. Orig. Bd. 42. H. 7.
105 FORNET, W., und SCHERESCHEWSKY, J. Spezifität der Präzipitatreaktion bei Lues und Paralyse. Berl. klin. Wochenschr. 1908. Nr. 18.
106 FOUQUET, CH., Hereditäre Syphilis der Leber. Ann. de mal. vénér. 1907.
107 Derselbe, Tréponèmes pâles de SCHAUD. dans l'appendice d'un fœtus hérédo-syphilitique. Compt. rend. Ac. scienc. 1907. T. 145.
107a Derselbe, Atypische gradlinige Form der Sp. p. Ann. mal. ven. 1907. Bd. II. H. 4 u. C. r. Soc. biol. Bd. 62. p. 225.

108 Fränkel, E., Fall von angeborener Dünndarmsyphilis. (Demonstr. im Hamburg. ärztl. Verein. 15. V. 1906.) Ref. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 32.
109 Fraenkel, C. u. Grouven, C., Erfahrungen mit „606". Münch. med. Wochenschr. 1910. S. 1771.
110 Frohwein, F., Spirochätenbefunde im Gewebe. Med. Klinik. 1906. Nr. 17.
111 Füresz, E., Beziehungen der Spirochaete pallida zu der antiluetischen Kur. Med. Klinik. 1907. Nr. 35.
112 Fusco, Nuov. rivist. clinic. terapeut. 1906. Nr. 2.
113 Gastou, M., Nouveaux procédés de recherches du spirochète dans les frottis. Bull. de la Soc. franç. d. dermatol. et syphilogr. 1908. T. 19.
114 Gastou u. Commandon, Preuve donnée par l'ultramicroscope de la contagion possible de la syphilis par les verres à boire. Bull. de la soc. franç. de Dermatol. et de Syph. Nov. 1908.
115 Ghoreyeb, A new and quick method for staining spirochetes (treponemata) in smear preparations. Journ. of Americ. med. Ass. Vol. LIV. 1910. No. 19.
116 Giemsa, G., Färbung der Spir. pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 26 und Centralbl. f. Bakt. Orig. 1905. Bd. 37. H. 2.
117 Gierke, E., Verhältnis zw. Spir. u. d. Organen kongenital syphil. Kinder. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 9.
118 Derselbe, Kritik der Silberspirochäte. Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 3.
119 Derselbe, Intrazelluläre Lagerung der Syphilisspirochäten. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 44. 1907. H. 4.
120 Glaser, Erkennung der Syphilis und ihrer Aktivität durch probatorische Hg-Injektionen. Berl. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 27.
121 *Glass, J., Spir. pallida. Inaug.-Dissert. Leipzig 1906. B. Georgi.
122 Goldhorn, A rapid and certain method of staining Spir. pallida. Proc. of the New York pathol. soc. 1905, 5.
123 Gottberg, Arch. f. Hyg. 1908. Bd. 65.
124 Gradle, Clinical stain for the Spirochaeta pallida. Journ. of Americ. med. Ass. 1908. Nr. 16.
125 Greeff u. Clausen, Spir. pallida bei experimentell erzeugter interstitieller Hornhautsyphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 36.
126 Gross, J., Zur Nomenklatur der Spirochaeta pallida Schaud. u. Hoffm. Arch. f. Protistenkunde. 1911. Bd. 24. H. 2.
127 Grouven, C. u. Fabry, H., Spirochäten bei Syphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 37.
128 Grouven, C., Positive Syphilisimpfungen am Kaninchenauge. Med. Klinik. 1907. Nr. 26.
128a Derselbe, Spirochaete pallida bei kongenitaler Syphilis. Centralbl. f. Gynäkol. 1908. Nr. 18.
129 Derselbe, Klinisch erkennbare Allgemeinsyphilis beim Kaninchen. X. Kongr. d. D. Dermatol. Ges. zu Frankf. a. M. 8.—10. VI. 1908.) Dermatol. Zeitschr. 1908. Bd. XV. H. 4. und Med. Klinik 1908. H. 8. S. 267.
130 Derselbe, Experimentelle Kaninchensyphilis. Sitzungsber. der Niederrh. Ges. f. Natur- u. Heilkunde. Bonn. 10. XII. 1906; 21. I. 1907; 13. V. 1907; 22. VII. 1907; 18. V. 1908; 25. X. 1909 sowie Dermatol. Zeitschr. 1910. Bd. XVII. S. 161.
131 Derselbe, Sekundärsyphilis niederer Affen und des Kaninchens. Ärzteverein Halle 14. XII. 1910. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1911. 14. II.) Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 17.
132 Derselbe, Vakzinationsversuche beim syphilitischen Kaninchen. Verein d. Ärzte in Halle. 17. V. 1911 u. Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 36.
133 Grünberg, Ref. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 29.
134 Guszmann J., Ätiologie der Syphilisrezidive. Wien. med. Wochenschr. 1909. Nr. 32 u. 33.
135 Derselbe, Pathogenese der Syphilisrezidive. Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. 50. 1910. S. 10.
136 *Hauck, Verhalten der Leukocyten im zweiten Stadium der Syphilis vor und nach Einleitung der Quecksilbertherapie. Arch. f. Dermatol. und Syph. 1906. Bd. 78.

137 Hecht, Zusammenhang von spitzen Condylomen und Spirochäten. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1908. Bd. 90. H. 1/2.
138 Hecht u. Wilenko, M., Untersuchung der Spirochaete pallida mit dem Tuscheverfahren. Wien. klin. Wochenschr. 1909. Nr. 26 und Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 14.
139 Herrmann, Ch., Spir. pallida. New York and. Phil Med. Journ. Dez. 1905.
140 *Hertmanni, Lebensdauer der Spir. pallida. Dermatol. Zeitschr. 1909. Bd. 16. H. 10.
141 Herxheimer, K. u. Hübner, H., Darstellungsweise und Befund der bei Lues vorkommenden Spirochaete pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 26.
142 Herxheimer, K., Kenntnis der Spir. pallida. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 39.
143 Derselbe, Beziehungen der Spir. pallida zur Lues maligna. (IX. Kongr. d. deutsch. Dermat. Ges. in Bern 13. IX. 1906.) Ref. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 82. S. 290.
144 Derselbe, Arsenobenzol u. Syphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1910. S. 1517.
145 Herxheimer, K. u. Loeser, Bau der Spirochaeta pallida. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 46.
146 Herxheimer, K. u. Opificius, Treponema Schaudinn. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 7.
147 Hirschberg, Journ. of the Amer. med. Assoc. 1905. Oktober.
148 Hoffmann E., Nachtrag zur Arbeit von F. Schaudinn u. E. Hoffmann „Über Spir. pallida bei Syphilis“ usw. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 23.
149 Derselbe, Spirochäten bei ulzerierten Karzinomen. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 28 und Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 24.
150 Derselbe, Spir. pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 43.
151 Derselbe, Spir. pallida bei einem mit Blut geimpften Makaken. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 46.
152 Derselbe, Die Ätiologie der Syphilis. Berlin 1906. J. Springer. (Enthält Resultate sämtlicher Hoffmann'schen Arbeiten.)
153 Derselbe, Diagnostische Bedeutung der Spir. pallida. Berl. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 44.
154 Derselbe, Experimentelle Untersuchungen über die Infektiosität des syphilitischen Blutes. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 13.
155 Derselbe, Experimentelle Syphilis, Spirochaete pallida und andere Spirochätenarten. Dermatol. Zeitschr. Bd. 13. H. 8. Vortrag Mikrob. Ges. 9. VI. 1906.
156 Derselbe, Bemerkungen zu der Arbeit von F. Sandman „Impfung mit Resten von syphilitischen Effloreszenzen“. Dermatol. Zeitschr. 1908. Bd. 15. H. 5.
157* Derselbe, Ätiologie d. Syphilis. Verh. d. Dermat. Ges. Berlin 1907.
157a Derselbe, Die Ätiologie der Syphilis. (Referat auf XVI. internat. med. Kongreß zu Budapest 31. VIII. 1909.) Dermatol. Zeitschr. 1909. Bd. 16. H. 11.
158 Derselbe, Experimentelle Syphilis. (Sekundäre Syphilide, primäres Hornhautsyphilom.) Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 13.
159 Derselbe, Zur Frage der Affen- und Kaninchensyphilis. Münch. med. Wochenschr. 1911. H. 21.
159a Derselbe, Ätiologie d. Syphilis. In: Handb. d. Geschl.-Kr. Wien 1910. A. Hölder.
160 Hoffmann, E. u. Halle, Bessere Darstellungsart der Spir. pallida im Ausstrich. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 31.
161 Hoffmann, E. u. Beer, A., Nachweis der Spir. pallida im Gewebe. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 22.
162 Hoffmann, E. u. v. Prowazek, S., Balanitis- und Mundspirochäten. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1906. Bd. 41.
163 Hoffmann, E. u. Brüning, W., Gelungene Übertragung der Syphilis auf Hunde. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 14.
164 Hoffmann, E., Loehe, H. u. Mulzer, P., Syphilitischer Initialaffekt der Bauchhaut an der Einstichstelle nach Impfung in die Hoden von Affen und Kaninchen. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 27. 1908.
165 Hoffmann u. Loehe, Allgemeine disseminierte Hautsyphilide bei niederen Affen nach

Impfung in den Hoden. Berl. klin. Wochenschr. 1908. Nr. 41 und Berl. med. Ges. 15. VII. 1908.
166 HOFFMANN, E. u. JAFFÉ, J., Weitere Erfahrungen mit Salvarsan. Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 29.
167 HOFFMANN, W. H., Beiträge zur Reinzüchtung der Spir. pallida. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krankheiten 1910. Bd. 68. S. 27.
168 Derselbe, Erfolgreiche Übertragung von Syphilisspirochäten auf Meerschweinchen. Deutsche med. Wochenschr. 1910. H. 22.
169 Derselbe, Übertragung der Syphilis auf Kaninchen mittels reingezüchteter Spirochäten vom Menschen. Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 34.
170 HUEBSCHMANN, Spirochaete pallida (SCHAUDINN) und Organerkrankung bei Syphilis congenita Berl. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 24.
171 HUTCHINSON, J., On auto-inoculation and re-infection of syphilis. Lancet 1909. Vol. I. p. 1509.
172 JACQUET et SÉZARY, Bull. de la Soc. méd. des hôpitaux. Séance du 23 mars 1906 et du 1. février 1907 (cit. bei LEVADITI-ROCHÉ).
173 JADASSOHN, J., Syphilidologische Beiträge. Arch. f. Dermatol. u. Syphil. 1907. Bd. 86.
174 JANCKE, Gelungene Filtration von Syphilisvirus. Med. Klinik 1907. Nr. 17.
175 JESIONEK, Salvarsanmilch. Münch. med. Wochenschr. 1911. S. 1169.
176 IGERSHEIMER, Ref. Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 26.
176a Derselbe, Salvarsanwirkung am Auge. Verein d. Ärzte zu Halle a. S. 14. XII. 1910. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 7.)
177 JOANNITZESCU u. GALASCHESCU, Einfluß der Quecksilberbehandlung und speziell der Sublimateinspritzung auf die Spirochaete pallida SCHAUDINN. Spitalul. 1905. Nr. 23/24.
178 *JOHN, F., Reinfectio syphilitica. Samml. klin. Vorträge (R. v. VOLKMANN). Leipzig 1909.
179 KALB, R., Neue Spirochätenfärbung. Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 26.
180 Derselbe, Kutane Reaktion der Syphilide bei der Behandlung mit Arsenobenzol und ihre Deutung. Berl. klin. Wochenschr. 1911. Nr. 1.
181 KARWACKI, Gazeta lekarska 1906. — (Bac. et spiroch.) Przegl. chor. skórn. i wen. Varsovie. 1906. I. — (Spir. oris) Gazet. lek. 1902.
182 KIOLEMENOGLOU und v. CUBE, Spir. pallida und Syphilis. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 27.
183 KLAUSNER E. Sekundenfärbung der Spirochaeta pallida. Berl. klin. Wochenschr. 1911. Nr. 4.
184 KLEBS, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1879.
185 Derselbe, Zeitschr. f. wissensch. Zoologie 1893. Bd. 55.
186 KLEIN, K., Klinisches und morphologisches Material zur Ätiologie der Syphilis. Mittlgen. aus den Hamb. Staatskrankenanstalten. 1908. Bd. 8. H. 15.
187 KLINGMÜLLER und BAERMANN, Ist das Syphilisvirus filtrierbar? Deutsche med. Wochenschr. 1904. Nr. 21.
189 KOWALEWSKI, Primäraffekt am Lid mit Demonstration von Spirochäten. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 52.
190 KRAUS, A., Spirochätenuntersuchungen. Prag. med. Wochenschr. 1906. Nr. 27/28 und Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 52.
191 Derselbe. Untersuchungen über Spir. pallida. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 82.
192 KRAUS, A., (Prag), Spirochätenfärbung. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 52.
193 KRAUS, R. und PRANTSCHOFF, Konstantes Vorkommen der Spir. pallida im syph. Gewebe beim Menschen u. Affen. Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 37. Siehe auch:
194 KRAUS, Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 22.
195 KRAUS, R., Immunität und ätiologische Therapie d. Syphilis. Sitz-Ber. d. Akad. d. Wiss. Wien. 1905. Abt. III. Bd. 114. Ferner: Wien. klin. Wochenschr. 1905 und 1906. H. 21.
196 Derselbe, Mac. rhesus mit generalisierter Syphilis. K. K. Ges. d. Ärzte in Wien. Ref. M. m. W. 1906. Nr. 26.
197 Derselbe und VOLK, Lokale Immunität bei Lues, Vaccine und Tuberkulose. Ref. IX. Kongreß d. D. Dermatol. Ges. in Bern 12. IX. 1906. Ref. Arch. f. Dermatol. 1906. Bd. 82. S. 277 u. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 21.

198 Krefting, R., Ein sicherer Fall von Reinfectio syphilitica eines mit Salvarsan behandelten Patienten. Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 31.
199 Kreibich, Ätiologische Therapie der Syphilis. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 8.
200 Derselbe, Wirkung des Quecksilbers. Arch. f. Dermatol. und Syph. 1907. Bd. 86. S. 265.
201 Kren, O., Diskuss. Bem. Naturf. Vers. Meran 1905. Leipzig 1906. Verl. Vogel.
202 Krzysztalowicz, F. u. Siedlecki, M., Contribution à l'étude de la structure et du cycle évolutif de Spir. pallida Schaudinn. Bull. Acad. Scienc. d. Cracovie. Nov. 1905.
203 Dieselben, Verhältnis des Entwicklungszyklus des Treponema pallidum Schaudinn zu den syphilitischen Krankheitsstadien. Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1906. Bd. 43.
204 Dieselben, Verhalten der Spirochaeta pallida in syphilitischen Effloreszenzen und die experimentelle Syphilis. Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. 46. H. 9. 1908.
205 *Dieselben, Étude expérimentale de la syphilis; morphologie de Spirochaeta pallida. (Gutes Literaturverzeichnis.) Bull. Acad. Scienc. de Cracovie. März 1908.
206 Landsteiner, K., Immunität und Serodiagnostik bei Syphilis. XIV. intern. Hyg.-Kongr. Berlin. Sept. 1907. Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 41. S. 785.
207 Landsteiner u. Finger, Immunität bei Syphilis. Freie Verein. f. Mikrob. Berlin 7.—9. Juni 1906.
208 Landsteiner u. Mucha, Technik der Spirochätenuntersuchung. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 45.
209 Langer, J., Spir. pallida in den Vakzinen bei kongenital-syphilit. Kindern. Münch. med. Wochenschr. 1910. H. 38.
210 Lebailly, C., Multiplication in vitro du Treponema pallidum Schaudinn. Compt. rend. Acad. scienc. 1908. Bd. 146. p. 312.
211 Mac Lennan, A., Spir. pallida and its variations. Brit. med. Journ. 12. V. 1906.
212 Derselbe, A preliminary note upon the Cytorrhyctes luis (Siegel) and the Spirochaeta pallida. Brit. med. Journ. 1906. 3. II. p. 258.
213 Derselbe, Syphilisdiagnose. Brit. med. Journ. 1907. No. 2447.
214 Lesser, F., Organotrop-Spirillotrop. Berl. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 43.
215 Leuriaux, C. et Geets V., Culture du Treponema pallidum de Schaudinn. Centralbl. f. Bakt. 1906. Orig. Bd. XLI. H. 6.
216 Levaditi, C., Syphilis congénitale et Spirochaeta pallida. (Compt. rend. Soc. biol. 20. V. 1905.) Presse méd. 31. V. 1905.
217 Derselbe, Sur la coloration du Spirochaeta pallida dans les coupes. Compt. rend. Soc. biol. 1905. Bd. 59.
218 Derselbe, L'histologie pathologique de l'hérédo-syphilis avec ses rapports avec le Spir. pallida. Compt. rend. Soc. biol. 1905. p. 342. Ferner dasselbe Thema: Compt. rend. Soc. biol. 1905. No. 34. Ferner: Ann. de l'Inst. Pasteur. Januar 1906. No. 1.
219 Derselbe, Le cil du Treponema pallidum. Compt. rend. Soc. biol. T. 71. 1911. p. 156.
220 Levaditi et Petresco, G., Passage du Spir. pall. dans le liquide de vésicatoire. La Presse méd. XII. 1905.
221 Levaditi et Manouélian, Nouvelle méthode rapide pour la coloration des spiroch. sur coupes. Compt. rend. Soc. biol. 1906. T. 60.
222 Levaditi et Mc Intosh, J., Contribution à l'étude de la culture de „Treponema pallidum" (Ann. de l'Inst. Pasteur. XXI. 1907. p. 784).
223 Levaditi et Yamanouchi, T., Recherches sur l'incubation dans la syphilis. Ann. d. l'Inst. Past. 1908. No. 10.
224 Dieselben, La transmission de la syphilis au chat. Compt. rend. Acad. scienc. 1908. T. 146. p. 1120.
225 Dieselben, Inoculation de la syphilis au prepuce du lapin. Compt. rend. Soc. biol. 1908. T. 64. No. 19.
226 Levaditi et Rosenbaum, A., Actions des substances hémolytiques sur les protozoaires, les spirochètes et les vibrions. Ann. d. l'Inst. Past. T. XXII. 1908. No. 4.
227 Derselbe et Stanesco, V., Culture de deux spirochètes de l'homme. (Sp. gracilis et Sp. balanitidis.) Compt. rend. Soc. biol. T. 67. 1909. Nr. 26.
228 *Levaditi u. Roché, J., La Syphilis. Paris 1909. Masson et Co.
229 Lipschütz, B., Spir. pallida Schaudinn. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 46.

230 Lipschütz, B., Kenntnis der Spirochaete pallida im syphilitischen Gewebe. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 37.
231 Derselbe, Beziehungen der Spirochaete pallida zum Hautpigment syphilitischer Effloreszenzen. Dermatol. Zeitschr. 1907. H. 2.
232 Loeffler, F., Neue Verfahren zur Schnellfärbung von Mikroorganismen. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 5.
233 Löhe, H., Disseminierte Hautsyphilide bei niederen Affen nach Impfung in die Mamma. Charité-Ann. Jahrg. XXXIII. 1909. p. 721.
234 Loewenthal, Spir. pallida. Verein f. innere Med. in Berlin 19. V. 1905. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 29.
235 Loewy, K., Beiträge zur Spirochätenfrage. Arch. f. Dermatol. und Syph. 1906. Bd. 81.
236 Malinowsky, Spir. pallida bei tertiärer Lues. Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1908. Bd. 45. Nr. 10.
237 Manahan, T. J., Spirochaeta pallida of Syphilis, with description of rapid method of staining. Boston Med. and S. Journ. 8. III. 1906.
238 Mandelbaum, Eine vitale Färbung der Spirochaete pallida. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 46.
239 Marcus u. Welander, Behandlung der Syphilis. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 79. p. 213.
240 Margolis, I., Empfänglichkeit des Meerschweinchens für Syphilis. Inaug.-Diss. Berlin 1911. O. u. E. Klett, Berlin.
241 Marino, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1905. T. 19. p. 351. (Cit. nach Levaditi-Roché.)
242 Martineau, Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1884. Nr. 16.
243 Marzinowsky, E., Spirochaete pallida und Syphilis. Medinzinskoje Obosrenije 1906. Nr. 9 und Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 43.
244 Meirowsky, Einfache Methoden zur schnellen Färbung lebender Spirochäten. Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 27.
245 Mendoza, Spir. pallida u. Syphilis. Bolet. de istituto d. sueroterap. Madrid 1905. 30. VI.
246 Metschnikoff, E., Sur la spirochète de la syphilis. Acad. de méd. 16. V. 1905 u. Sém. méd. 1905. No. 20.
247 Derselbe, Experimentelle Syphilis. Acad. de Méd. Mai 1906. (Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1906 Nr. 34) und Bull. méd. 1906. Nr. 37 u. 38.
248 Derselbe, Die experimentelle Syphilis, XV. internat. med. Kongr. Lissabon 21. IV. 1906. (Ref. Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. 81. 1906.)
249 Metschnikoff, E. u. Roux, E., Études expérimentales sur la syphilis. Ann. de l'Inst. Past. 1903. p. 809. Ferner: ebenda 1904. Januar und November.
250 Dieselben, Études expérimentales sur la syphilis. Ann. de l'Inst. Past. 1905. p. 673 u. 1906. T. 20. No. 10.
251 Mezincescu, D., Hodensyphilome bei Kaninchen nach Impfung mit syphilitischem Virus. Deutsche med. Wochenschr. 1909. S. 1188.
252 Mickley, Wirkung des atoxylsauren Hg auf menschliche Syphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1909. Nr. 41.
253 Milhit, Experimentelle Lebersyphilis. Sém. méd. 1907. Nr. 39.
254 Minassian, P., Spirochaete pallida e sifilomi extragenitali. (Riv. Veneta de scienze Med. 1907. p. 225.)
255 Mohn, Spirochätenbefunde in Placenta, Nabelschnur und Eihäuten (Med. Ges. in Leipzig. 24. VII. 1906). Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 1.
256 Derselbe, Veränderungen an Placenta, Nabelschnur und Eihäuten bei Syphilis und ihre Beziehungen zur Spirochaeta pallida. Zeitschr. f. Geburtsh. und Gynäkol. 1907. Bd. 59. H. 2.
257 Mucha, S., Spir. pallida in Placenta. (Wien. Dermatol. Ges. 24. I. 1906.) Ref. Arch. f. Dermatol. und Syph. Bd. 81. 1906. S. 407.
258 Derselbe, Nachweis der Spirochaete pallida im Dunkelfeld. Med. Kl. 1908. Nr. 39.
259 Mucha u. Scherber, G., Spir. pallida im syphilitischen Gewebe. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 6.

260 *Mühlens, P. u. Hartmann, M., Bacillus fusiformis und Spirochaeta dentium. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.-Kr. 1906. Bd. 55. S. 81.
261 *Mühlens, P., Spir. pallida u. einige andere Spirochätenarten, insbesondere in Schnitten. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 43. 1907. H. 6 u. 7.
262 Derselbe, Experimentelle Kaninchenhornhautsyphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 30.
263 Derselbe, Vergleichende Spirochätenstudien. Zeitschr. f. Hyg. und Inf.-Kr. 1907. Bd. 57.
264 Derselbe, Spir. pallida. Diskuss. in d. Berl. med. Gesellschaft am 20. II. 1907.
265 Derselbe, Reinzüchtung einer Spirochäte (Spir. pallida?) aus einer syphilitischen Drüse. Deutsche med. Wochenschr. 1909. Nr. 29.
266 *Derselbe, Züchtungsversuche der Spir. pallida und refringens sowie Tierversuche mit den kultivierten Spirochäten. Klin. Jahrb. 1910. Bd. 23. S. 339.
267 Derselbe u. Loehe, Züchtungsversuche der Spir. pallida. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1908. Bd. 47.
268 Müller, R. u. Scherber, G., Ätiologie der Balanitis erosiva circinata u. Balanit. gangraen. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1905. Bd. 77.
269 Dieselben, Weitere Mitteilungen über die Ätiologie und Klinik der Balanitis erosiva circinata und Balanitis gangraenosa. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 21.
270 *Mulzer, P., Spirochätenbefunde bei Syphilis. Sammelreferat. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 79.
271 *Derselbe, Therapie der Syphilis, ihre Entwicklung und ihr gegenwärtiger Stand. Berlin, J. Springer 1911.
272 Nagelschmidt, Quecksilberbehandlung bei Syphilis. Dermatol. Zeitschr. 1908. Bd. 15. S. 154.
273 Nattan-Larrier et Brindeau, Présence du Spir. pall. dans le placenta syphilitique. Soc. Biol. 27. I. 1906. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 13 und Compt. rend. Soc. biol. 1906. T. 60.
274 Mac-Neal, Spirochaete pallida. Journ. of Am. Ass. 1907. No. 7.
275 Neisser, A., Baermann, G., u. Halberstädter, L., Versuche zur Übertragung der Syphilis auf Affen. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 1—3.
276 Neisser, Siebert u. Schucht, IV. Mitteilung. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 13.
277 *Neisser, A., Die experimentelle Syphilisforschung nach ihrem bisherigen Stand. Berlin 1906. J. Springer.
278 Derselbe, Ein Beitrag zur Lehre von der Kaninchensyphilis. Dermatol. Zeitschr. 1908. Bd. 15. S. 73.
279 *Derselbe, Bericht über die unter finanzieller Beihilfe des Deutschen Reiches während der Jahre 1905—1909 in Batavia und Breslau ausgeführten Arbeiten zur Erforschung der Syphilis. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt 1911. Bd. 37. (In diesem Berichte ist die gesamte Literatur der experimentellen Syphilisforschung enthalten.)
280 *Neuber, Ed., Beeinflußt die Quecksilberbehandlung die Schutzstoffe des Organismus? Arch. f. Dermatol. und Syph. 1910. Bd. 105. H. 1 u. 2.
281 Neumann, R. O., Demonstr. über Spir. pallida u. and. Spirochäten. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 38. p. 1848.
282 Nicolas, Favre et André, Syphilis et Spirochète pallida. La Syphilis 1905. Dez. No. 12.
283 Nicolas, Favre et Charlet, Comparaison des résultas fournis par l'intradermoréaction à la syphiline et par la séroréaction de Wassermann. Lyon méd. T. 114. 1910. No. 25. p. 1253.
284 Nielsen, L., Papuloerosive Syphilide in Mund u. Schlund mit Nachweis der Sp. pallida. Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1909. Bd. 48. H. 2.
285 v. Nissen, Bedeutung der Spirochaete pallida für die Syphilisursache und Syphilisdiagnose. Wien. med. Wochenschr. 1906. Nr. 27—29.
286 Noeggerath u. Stähelin, Spirochaete pallida im Blut Syphilitischer. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 31.
287 Noguchi, H., Gewinnung der Reinkulturen von pathogener Spir. pallida und von Spir. pertenuis. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 29.

288 NOGUCHI, A method for the pure cultivation of pathogenic Treponema pallidum (Spirochaeta pallida). The Journ. of experimental Medicine 1911. Vol. XIV. No. 2. 1. August.
289 Derselbe, Hautallergie bei Syphilis; ihre diagnostische und prognostische Bedeutung. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 45.
290 OPPENHEIM u. SACHS, Eine einfache Methode zur Darstellung der Spir. pallida; Spirochätenbefunde bei Syphilis und anderen Krankheitsprodukten. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 29 und Wien. klin. Wochenschr. Nr. 45.
291 Derselbe, Quecksilberfestigkeit der Syphilisspirochäten nebst Bemerkungen zur Therapie mit Ehrlich-Hata 606. Wien. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 37.
292 OSSOLA, Sulla sifilide del coniglio. Giorn. ital. della mal. ven. e della pelle 1909. Vol. 50. No. 1 u. Vol. 51. No. 1.
293 PARIS et SABARÉANU, Tréponème pâle dans la glande pituitaire des hérédo-syphilitiques Bull. de la Soc. franç. de Dermatol. et Syphiligraphie T. 21. 1910. p. 198.
294 PARODI, U., Übertragung der Syphilis auf den Hoden des Kaninchens. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 44. H. 5 (Aug. 1907) und R. Acad. di Medic. Turin. 14. VI. 1907.
295 PASCHEN, Demonstr. im Hamb. ärztl. Verein. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 19 u. 49. Ferner: Deutsche med. Wochenschr. 1906. H. 5 u. 34.
296 PASINI, Giorn. ital. d. mal. ven. e. d. pelle 1905. No. 3.
297 Derselbe, Ges. f. Med. u. Biol. in Mailand. Sitzg. 30. XI. 1906. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 814.
298 PAULI, W. O., Placental syphilis. Bull. of the Johns Hopkins Hosp. Baltimore. Nov. 1908.
299 PEISER, J., Behandlung kongenitaler Syphilis beim Säugling durch Injektion von „606“ bei der stillenden Mutter. Berl. klin. Wochenschr. 1911. Nr. 1.
300 PERRIN, Spirochaeta balbianii. Arch. f. Protistenkunde 1906.
301 PETRESCO, Imprégnation au nitrate d'argent des spirochaetes dans les coupes. Compt. rend. Soc. biol. 1905. T. 59.
302 PIELICKE, Diskuss. Bem. Berl. Med. Ges. 17. V. 1905. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 23.
303 PINKUS, F., Syphilitische Infektion durch Trinkgefäße und andere Gebrauchsgegenstände. Med. Klin. 1909. Nr. 18. S. 679.
304 PLAUT, Demonstration von Spirochäten. Ärztl. Verein z. Hamburg. 25. VI. 1907. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 48.
305 PLAUT, Demonstrat. von Spirochäten mit dem BURRI'schen Tuscheverfahren. Biol. Abt. d. ärztl. Vereins zu Hamburg. 16. XI. 1909. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 4.
306 LE PLAY, A., et SÉZARY, A., Diagnostic du chancre syphilitique de l'amygdale et de l'angine chancriforme. La Presse méd. 1910. No. 60.
307 PLOEGER, H., Spirochäten bei Syphilis. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 29.
308 POKROWSKY, Wirkung des Salvarsans auf die Spir. pallida. Med. Obosrenije 1911. No. 4. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 26.)
309 POLLIO e FONTANA, Spir. di SCHAUDINN nell' acne sifilitica del capillizio. Gazz. d. ospedali No. 109. 1905.
310 PREIS, K., Der bakteriologische Nachweis der Lues. Wien. med. Presse 1906. Nr. 49.
311 v. PROWAZEK, S., Technik der Spirochätenuntersuchung. Zeitschr. f. wissensch. Mikr. u. f. mikr. Technik 1906. Bd. 23. Nr. 1.
312 Derselbe, Morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Hühnerspirochäten. Arb. Kais. Ges.-Amt. 1906. Bd. 23.
313 Derselbe, Vergleichende Spirochätenuntersuchungen. Arb. Kais. Ges.-Amt. 1907. Bd. 26. H. 1.
314 PÜRCKHAUER, R., Syphilisversuche an Kaninchen. Arb. Kais. Ges.-Amt 1911. Bd. 37. S. 569.
315 QUEYRAT, Spirochäte und allgemeine Paralyse. (Acad. de méd. 30. III. 1906.) Ref. Münch. med. Wochenschr. 1906. S. 781.
316 QUEYRAT et PINARD, Résultat de l'inoculation, des produits syphilitiques, primaires aux sujets atteints d'accidents tertiaires. Bull. de la Soc. franç. de Dermatol. et Syphil. T. 20. 1909. S. 156.

317 Rabinowitsch, M., Spirochaete pallida und Spirillum Obermeieri, ihre intrazelluläre Lagerung und deren Bedeutung. Virchows Arch. Bd. 198. H. 1.
318 Ranke, O., Gehirnveränderungen bei der angeborenen Syphilis. Zeitschr. f. die Erf. u. Beh. d. jugendl. Schwachsinns. 1908. Bd. 2. H. 1—3.
319 Raubitschek, Fall von Spir. pallida im kreisenden Blut. Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 28.
320 Ravaut et Ponselle, Spir. pallida im Blut. Gaz. d. hôpit. 1906. No. 86.
321 Dieselben, Imprégnation du Spir. pallida dans les frottis sur lame au moyen de la largine. Compt. rend. Soc. biol. 1908. T. 65. No. 22.
322 Reckzeh, Disk. Bem. Berl. med. Ges. 24. V. 1905. Ref. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 23.
323 Reitmann, K., Färbung der Spir. pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 2.
324 Reuter, Spir. pallida i. d. Aortenwand bei Heller'scher Aortitis. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 10 u. 16; Zeitschr. f. Hygiene 1906. Bd. 54. H. 1.
325 Richards, M. O. and Hunt, L., The spirochaetae found in syphilitic lesions. Lancet 1906. 10. III. p. 666.
326 Rietschel, H., Infektionsmodus bei der kongenitalen Syphilis. Med. Klin. 1909. Nr. 18.
327 Rille, Spirochätenbefunde bei Syphilis. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 29.
328 Rille u. Vockerodt, Dasselbe Thema. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 34.
329 Risso, A. u. Cipollina, A., Unsere Resultate in der Serumtherapie der Syphilis. Arch. f. Dermatol. u. Syphilis 1906. Bd. 79. H. 1. Ferner: siehe Rif. med. 1904. Nr. 48 und Gazz. d. ospedali 1906. Nr. 126.
330 Robshoven, F., Vorkommen der Spirochaeta pallida im Blut. Med. Klinik 1907. Nr. 38.
331 Rona, Der gangränöse, phagedänische, diphtherische Schanker der Autoren. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1903. Bd. 67. 1904. Bd. 71. 1905. Bd. 74.
332 Roscher, Spirochaeta pallida bei Syphilis. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 44—46.
333 Rosenberger, R. C., The Spirochetae found in syphilis. Proc. of the Path. Soc. of Philadelphia. IX. 1906. p. 49.
334 Rosenthal, W., Festschr. f. J. Rosenthal, Leipzig 1906. G. Thieme.
335 Rosenthal, O., Über „606“. Berl. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 47.
336 Rothermundt, M. und Dale, J., Experimentelle Untersuchungen über die Arsenfestigkeit der Spirochäten. Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 39.
337 Sabrazès, J. u. Dupérié, Spirochètes et lesions syphilitiques d'un foetus de six mois. Irido-cyclite specifique. Compt. rend. Soc. biol. 1908. T. 65. p. 452.
338 Dieselben, Thionine picriquée après imprégnation argentique des spirochètes. Comp. rend. Soc. biol. 1909. T. 66. No. 15.
339 Sakurane, K., Histologische Untersuchungen über das Vorkommen der Spirochaete pallida in Geweben. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 82. S. 227.
340 Salmon, Présence du spir. pall. chez un enfant syphilitique héréditaire. La sem. méd. 1905. 24. V. 1905.
341 Derselbe, Arsenik bei Syphilis. Soc. de biol. Paris. 16. III. 1907. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 22 u. Ann. de l'Inst. Pasteur 1908. T. XXII. p. 66.
342 Salomon, P., Syphilis expérimentale de la cornée. Syphilis expérimentale de la conjonctive. Compt. rend. Soc. biol. 1904. No. 21.
342 a Derselbe, Influence du temps sur la résistance du virus syphilitique. Compt. rend. Soc. biol. 1904. Nr. 29.
343 Sandmann, F., Impfung mit Resten von syphilitischen Effloreszenzen. Dermatol. Zeitschr. 1908. Bd. 15. H. 5.
344 Schatiloff, P. u. Isabolinsky, M., Untersuchungen über die Wassermann-Neisser-Bruck'sche Reaktion bei Syphilis. Zeitschr. f. Immunitätsforschung und experimentelle Therapie 1909. Bd. 1. H. 2.
345 Schaudinn, F., Zur Kenntnis der Spir. pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 42.
346 Derselbe, Korrespondenz. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 43.
347 Derselbe, Zur Kenntnis der Spir. pallida und anderer Spirochäten. Aus dem Nachlaß Schaudinn's herausgegeben von Dr. M. Hartmann und Dr. S. v. Prowazek. Arb. Kais. Ges.-Amt 1907. Bd. 26. H. 1.

347 SCHAUDINN, F. u. HOFFMANN, E., Vorl. Bericht über das Vorkommen von Spirochäten in syphilitischen Krankheitsprodukten und Papillomen. Arb. Kais. Ges.-Amt 1905. Bd. 22. H. 2.
348 Dieselben, Spirochätenbefunde im Lymphdrüsensaft Syphilitischer. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 18.
349 Dieselben, Spir. pallida bei Syphilis und die Unterschiede gegenüber anderen Arten dieser Gattung. Vortrag u. Demonstr. in der Berl. med. Gesellschaft am 17. u. 24. V. 1905. Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 22 u. 23.
350 SCHERBER, Durch Syphilisimpfung erzeugte Keratitis parenchymatosa beim Kaninchen. Wien. klin Wochenschr. 1906. Nr. 24. IX. Kongr. Dermatol. Gesellschaft in Bern 12. IX. 1906.
351 Derselbe, Spirochätenerkrankungen. Zeitschr. f. Augenheilkunde 1907. Bd. 17. S. 132.
352 SCHERESCHEWSKY, J., Spir. pallida in Ausstrichen, GIEMSA-Färbung. Deutsche med. Wochenschrift 1907. S. 462 u. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1907. Bd. 45. H. 1.
353 Derselbe, Beiträge zum Studium der Syphilis. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 47. H. 1. 1908.
354 Derselbe, Züchtung der Spirochaete pallida (SCHAUDINN). Deutsche med. Wochenschr. 1909. Nr. 19.
355 Derselbe, Weitere Mitteilungen über die Züchtung der Spirochaete pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1909. Nr. 29.
356 Derselbe, Bisherige Erfahrungen mit der gezüchteten Spirochaete pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1909. Nr. 38.
357 Derselbe, Syphilitische Allgemeinerkrankung beim Kaninchen durch intrakardiale Kulturimpfung. Deutsche med. Wochenschr. 1911. H. 20.
358 Derselbe, Übertragung der Syphilis auf Kaninchen mittels reingezüchteter Spirochäten vom Menschen. Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 39.
359 SCHEUER, O., Ein Fall von Syphilis insontium, zugleich ein Beitrag zur Lebensdauer der Spirochaete pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 10.
360 SCHICKELE, G., Wichtigste Fortschritte Gynäkologie. Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 17.
361 SCHLIMPERT, H., Spirochätenbefunde a) in Organen Neugeborener, b) an den Augen, a) Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 26. b) Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 48.
362 SCHMORL, G., Mitteilung zur Spirochätenfrage. Ges. f. Nat. u. Heilkunde zu Dresden. 3. XI. 1906. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1907. H. 4.
363 Derselbe, Färbung der Spirochaete pallida in Schnittpräparaten nach GIEMSA. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 22.
364 SCHNEIDER, Spir. pallida im Gewebe. Naturh.-med. Verein Heidelberg. 8. V. 1906. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 33.
365 SCHOLTZ, Spirochätennachweis bei Syphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 37.
365a Derselbe, Diskussionsbemerkung. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 41.)
366 Derselbe, Bedeutung des Spirochätennachweises für d. klin. Diagnose der Syphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 5. u. Nr. 14.
367 SCHREIBER u. HOPPE, „606“-Behandlung. Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 27.
368 SCHRIDDE, H., Spirochätenbefunde bei kongenitaler Lues. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 32. S. 1563.
369 Derselbe, Spirochätenbefunde in Organen und ihre Verwertung für die Diagnose und den Infektionsmodus der Syphilis. Ärztl. Verein zu Marburg 18. VII. 1906. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1906. S. 1892.)
370 SCHUBERG, A. u. MULZER, P., Sauger zur Entnahme von Saugserum. Arb. Kais. Ges.-Amt. 1909. Bd. 33. H. 1.
371 SCHUCHT, A., Zur experimentellen Übertragung der Syphilis auf Kaninchenaugen. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 3.
372 SCHÜTZ, J., Spir. pallida u. Cytorrhyctes luis. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 12.
373 SCHULZE, W., Impfungen von Kaninchenaugen mit Luesmaterial. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1905. Bd. 2.

374 Schulze, W., Impfungen mit Cytorrhyctes luis an Kaninchenaugen. Med. Klinik. 1905. Nr. 19 und 1907. Nr. 19. Ferner: Beiträge z. path. Anat. 1906. Bd. 39.
375 Derselbe, Die Silberspirochäte. Berl. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 37.
376 Schuster, Nachweis der Spirochaete pallidae, seine Bedeutung und praktische Verwendbarkeit für die Diagnose der Syphilis. 28. Balneologen-Kongreß. Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 17.
377 Sdrawomüslow, Silberfärbung der Spir. pallida. Russky Wratsch 1910. Nr. 14.
378 Selenew, J. F., Morphologie der Spirochaete pallida. Ring- und Sternformen derselben. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1910. Bd. 54. H. 1.
379 Derselbe, Zwei Fälle von Syphilissuperinfektion. Journ. russ. des malad. cutan. et vénér. 1910. p. 19.
380 Sézary, A. et Paillard, H., Treponème dans le liquide cephalorachidien au cours de l'hémiplégie syphilitique. Compt. rend. Soc. biol. T. 68. 1910. p. 295.
380a Derselbe, Treponème dans l'artérite cérébrale syphilitique. Compt. rend. Soc. biol. 1910. T. 68. p. 985.
381 Shaw, E. A., The distribution of Trep. pallid. in congenital gummata. Lancet. 2. VII. 1910.
382 Shennan, Spir. pallida in Syphilis. Lancet 17. III. 1906.
383 Shmamine, T., Centralbl. f. Bakt. Orig. 1911. Bd. 61.
384 Siebert, C., Spir. pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1905. Nr. 41.
384a *Derselbe, Experimentelle Untersuchungen und praktische Vorschläge zur persönlichen Syphilisprophylaxe. Arb. Kais. Ges. Amt. 1911. Bd. 37. p. 530.
385 Siebert, W., Spirochäten und Trypanosomen. Arch. f. Protistenkunde 1908. Bd. 11.
386 Siedentopf, Paraboloid-Kondensor von Zeiß. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskop. 1907. Bd. 24. Ferner: Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 47 und Münch. med. Wochenschr. 1907. S. 1503.
387 Siegel, J., Ätiologie der Syphilis. Med. Kl. 1905. S. 446. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 28 u. 29.
388 Derselbe, Weitere Untersuchungen über die Ätiologie der Syphilis. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 2.
389 Derselbe, Experimentelle Studien über Syphilis (Impfsyphilis der Affen). Centralblatt f. Bakt. 1907. Bd. 43. H. 4—6.
390 Simmonds, Diagnost. Wert d. Spirochätennachweises bei Lues congen. Ärztl. Verein Hamburg. 1. V. 1906 u. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1906. Bd. 42.
391 Derselbe, Spir. pallida bei Lues congenita. Biol. Abt. ärztl. Verein Hamburg. 19. V. 1908. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1908. Nr. 38.
392 Derselbe, Die Thymus bei kongenitaler Syphilis. Virchow's Archiv. Beih. 3 zum Band 194. 1908.
393 Simonelli, Su la contagiosità delle gomme sifilitiche. Giorn. ital. d. mal ven. e d. pelle 1909. Bd. 50. H. 1.
394 Sobernheim, G. u. Tomascewski, E., Spir. pallida. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 93.
395 *Derselbe, Syphilisspirochäte. In Kolle-Wassermann's Handbuch 1906.
396 Sowade, H., Syphilitische Allgemeinerkrankung beim Kaninchen durch intrakardiale Kulturimpfung. Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 15 u. 42.
397 Sowade und Igersheimer, Demonstration zur experimentellen Kaninchensyphilis. (Verein f. Ärzte z. Halle. 31. V. 1911. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 30.
398 Spengler, C., Tierexperimenteller Nachweis, Züchtung und Färbung des Syphiliserregers. Centralbl. f. Schweizer Ärzte 1911. Nr. 15.
399 Spitzer, L., Spirochätenbefunde im syphilitischen Gewebe. Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 31.
400 Derselbe, Ätiologische Therapie der Syphilis. Wien. klin. Wochenschr. 1905.
401 Derselbe, Weitere Beiträge zur ätiologischen Therapie der Syphilis. Wien. klin. Woch. 1906. Nr. 38. und Deutsche med. Wochenschr. 1909. Nr. 1.
402 Stanziale, R., Treponema pallid. nelle paralisi progressiva. Ann. d. Neurol. 1909. Vol. 26. H. 5—6.
403 Stenczel, A., Spirochaete pallida in den Krankheitsprodukten der erworbenen Syphilis. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 52.

404 STERN, M., Spirochaete pallida im Ausstrich mittels der Silbermethode. Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 14.
405 Derselbe, Beeinflussung syphilitischer Erscheinungen durch Nukleinhyperleukocytose. Med. Kl. 1907. Nr. 32. S. 949.
406 STRASMANN, ZIEGLER's Beiträge. Bd. 49. S. 430.
407 Derselbe, 2 Fälle von Syphilis des Zentralnervensystems mit Fieber, der zweite mit positivem Spirochätenbefund in Gehirn und Rückenmark. Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilkunde. Bd. 40. H. 5 u. 6.
408 STROSCHER, A., Therapie der kongenitalen Syphilis mit Einschluß serologischer Untersuchungsergebnisse. Dermatol. Zeitschr. 1910. Bd. XVII.
409 *SWELLENGREBEL, N. H., Over spirochaeten. Nederl. Tijdschrift voor Geneesk. 1909. II. 1.
410 TAEGE, K., Erfolgreiche Behandlung eines syphilitischen Säuglings durch Behandlung seiner Mutter mit „606". Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 33.
411 TEDESCHI, Hautreaktion der Syphilis. Gazz. d. ospedali 1908. No. 59.
412 THALMANN, Syphilisgift, Syphilisimmunität und Syphilisbehandlung. Ges. f. Natur- u. Heilkunde. Dresden 3. V. 1906. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 4.)
413 THIBIERGE et RAVAUT, Études de vénéréologie expérimentale. I. Inoculation de produits syphilitiques au bord libre de la paupière chez les singes macaques. Ann. de derm. et de syph. 1905. p. 575.
414 TOMASCEWSKI, E., Spir. pallida bei Lues III. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 27.
415 Derselbe, Die Wirkung des Hg und Jods auf die experimentelle Syphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 14.
416 Derselbe, Einfache Methode, bei Kaninchen Primäraffekte zu erzeugen. Deutsche med. Wochenschr. 1910. H. 22.
417 Derselbe, Ergebnisse der Superinfektion der Syphilis bei Kaninchen. Berl. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 31.
418 Derselbe, Kaninchen- und Meerschweinchensyphilis. Dermatol. Zeitschr. Bd. 18. 1911. p. 1.
419 Derselbe, Impfungen an Affen mit maligner Syphilis. Berl. klin. Wochenschr. 1911. Nr. 20.
420 TRINCHESE, Bakteriologische und histologische Untersuchung bei kongenitaler Syphilis. Münch. med. Wochenschr, 1910. Nr. 11.
421 TRUFFI, M., Übertragung eines menschlichen Primäraffektes auf die Haut des Kaninchens. Centralbl. f. Bakt. 1909. Orig. Bd. 48. p. 597.
422 Derselbe, Übertragung der Syphilis auf Kaninchen. Centralbl. f. Bakt. 1909. Bd. 52. H. 5.
423 Derselbe, Neue Untersuchungen über die Syphilis des Kaninchens. Med. Klin. 1910. p. 269.
424 Derselbe, Immunisierungsversuche gegen Syphilis beim Kaninchen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1910. Bd. 54. H. 2.
425 Derselbe, Empfänglichkeit des Kaninchens gegenüber syphilitischen Reinfektionen Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1910. Bd. 54. H. 4.
426 Derselbe, Übertragung der Syphilis auf Meerschweinchen. Biochimica e Terapia sperimentale 1909. I. Bd. H. 8 und Berl. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 34.
427 Derselbe, Syphilis beim Kaninchen. Rif. med. 1910. Nr. 6.
428 *UHLENHUTH, P., Die Chemotherapie der Spirillosen. Med. Klinik. 1911. Nr. 5.
429 *Derselbe, Experimentelle Grundlagen der Chemotherapie der Spirochätenkrankheiten mit besonderer Berücksichtigung der Syphilis. Berlin, Urban und Schwarzenberg 1911.
430 UHLENHUTH, GROSS u. BICKEL, Wirkung des Atoxyls auf Trypanosomen und Spirochäten. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 4.
431 UHLENHUTH, HOFFMANN, E. u. ROSCHER, K., Untersuchungen über die Wirkung des Atoxyls auf die Syphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 22.
432 UHLENHUTH, HOFFMANN, E. u. WEIDANZ, O., Präventive Wirkung des Atoxyls bei experimenteller Affen- und Kaninchensyphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 39.
433 UHLENHUTH u. WEIDANZ, O., Präventive Wirkung des Atoxyls im Vergleich mit Hg bei der experimentellen Kaninchensyphilis. Deutsche med. Wochenschr. 1908. S. 862.

434 Uhlenhuth u. Manteufel. Chemotherapeutische Versuche mit einigen neueren Atoxylpräparaten bei Spirochätenkrankheiten mit besonderer Berücksichtigung der experimentellen Syphilis. Zeitschr. f. Immunitätsf. 1908. Bd. I. S. 108.

435 Uhlenhuth u. Mulzer, P., Experimentelle Kaninchensyphilis mit besonderer Berücksichtigung der Impfsyphilis des Hodens. Arb. Kais. Ges.-Amt. 1909. Bd. 33. H. 1.

435a Dieselben. Allgemeine Syphilis bei Kaninchen und Affen nach intravenöser Impfung Arb. Kais. Ges. Amt 1910. Bd. 34. H. 2.

436 Dieselben. Die experimentellen Grundlagen chemotherapeutischer Versuche mit neueren Arsenpräparaten usw. Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 27.

437 Dieselben. Experimentelle Kaninchensyphilis. 4. Tagung d. fr. Ver. f. Mikrobiol. Berlin 1910. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Beih. z. Bd. 47. 1910.) S. auch Berl. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 25. Ferner: Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 2.

438 Dieselben. Syphilitische Allgemeinerkrankung bei Kaninchen. Deutsche med. Wochenschr. 1911. S. 51.

439 Veillon u. Girard. Compt. rend. Soc. biol. 1905. Vol. 59. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 7.

440 Versé, M., Demonstr. u. Vortrag über Spir. pallida. (Med. Ges. Leipzig, 15. V. 1906.) Ref. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 29.

441 Vörner, H., Verdeckte Syphilisstellen. Münch. med. Wochenschr. 1909. Nr. 14.

442 Derselbe, Wechselndes Vorkommen der Luesspirochäte. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 47.

443 Volpino, G., Färbung der Spir. pallida. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 4.

444 Volpino u. Fontana, Voruntersuchungen über künstliche Kultivierung der Spirochaete pallida. Centralbl. f. Bakt. 1906. Orig. Bd. 42. H. 7.

445 Vuillemin. Sur la dénomination de l'agent présumé de la syphilis. Acad. des Sciences, 5. VI. 1905. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 29.

446 Wechselmann, W., Experimenteller Beitrag zur Kritik der Siegel'schen Syphilisübertragungsversuche auf Tiere. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 6.

447 Derselbe, Postkonzeptionelle Syphilis und Wassermann'sche Reaktion. Deutsche med. Wochenschr. 1909. S. 665.

448 Derselbe. Örtliche und allgemeine Überempfindlichkeit bei der Anwendung von „606", Berl. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 47.

449 Derselbe. Behandlung der Syphilis mit „606". Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 32 u. Nr. 41. Berl. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 27.

450 Derselbe. Behandlung der Syphilis mit „606". Berlin 1911. Coblentz.

451 Wechselmann, W. u. Loewenthal, W., Kenntnis der Spir. pallida. Med. Klinik 1905. Nr. 33 u. 26.

452 McWeeney. Spirochaete in Syphilis. Brit. med. Journ. 1905. Nr. 2319.

453 Weil, E. u. Braun, H., Wesen d. luetischen Erkrankung auf Grund der neueren Forschungen. Wien. klin. Wochenschr. 1909. Nr. 11.

454 Wertmayer, F., Spirochaete pallida. Wien. klin.-therap. Wochenschr. 1905. Nr. 45.

455 Wiemann, Keratitis bei einem jungen Kaninchen (Hereditärsyphilis). Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1908. Bd. 93. S. 379.

456 Winkler. Spirochätenfärbung im Gewebe. IX. Kongr. d. Deutsch. Dermatol. Ges. in Bern. 18. IX. 1906. Ref. Arch. f. Dermatol. u. Syph. 1906. Bd. 82. S. 292.

457 Wolters, M., Über die bei Syphilis gefundenen Spirochäten. Med. Klinik. 1905. Nr. 38. S. 963.

458 Derselbe. Umfragen über die ätiologische Bedeutung d. Spir. pallida und des Cytorrhyctes luis für die Syphilis. Med. Klinik. 1905. Nr. 52.

459 Derselbe. Ätiologie der Syphilis. Med. Klinik. 1907. Nr. 28.

461 Wright, J. H. u. Richardson, O., Treponemata in syphilitic aortitis. Five cases, one with aneurism. Publ. of the Mass. Gen. Hosp. Boston. Vol. II. 1910. Nr. 2.

462 Zabel. Spirochaete pallida in Ausstrichen formalinfixierter Organe. Med. Klinik. 1907. Nr. [illegible]

463 Zabolotny, D. K., Spirochäten bei Syphilis. Russky Wratsch. 1905. Nr. 23.

464 *ZABOLOTNY, D. K., Zur Frage der Syphilispathogenese. Mikrobiol. Ges. zu St. Petersburg 13/26. X. 1906. Ref. Centralbl. f. Bakt. 1907. Bd. 39. S. 356.
465 Derselbe, Experimentelle Lues bei Pavianen. IX. Kongr. d. D. Dermatol. Ges. in Bern. 13. IX. 1906. Ref. Arch. f. Dermatol. Bd. 82. 1906. S. 292. und Arch. d. Scienc. biol. T. XI. Nr. 1 u. 2.
466 Derselbe, Int. Hyg. Kongr. Berlin. Sept. 1907.
467 Derselbe, Zur Frage der Kulturen von Spirochäten. Festschr. zu Ehren von METSCHNIKOFF, herausgeg. v. J. Praktitsch. Medizina 1909.
468 *Derselbe, Pathogenèse de la syphilis. Deuxième mémoire. Arch. des Sciences biol. St. Petersburg. T. 14. 1909. Fasc. 5. p. 389—438.
469 ZABOLOTNY u. MASLAKOWETZ, Spir. pallida. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1907. Bd. 44. H. 6.
470 ZEISS, C. (Jena). Ultramikroskopische Literatur. Centralbl. f. d. Gesamtgebiet d. Medizin u. ihrer Hilfswissensch. Wien 1908. Nr. 6 u. 7.
471 ZETTNOW, E., Färbung und Teilung der Spirochäten. Zeitschr. f. Hyg. 1906. Bd. 52. p. 489 u. 539.
472 ZIELER, Vererbung der Syphilis. Fränk. Ges. f. Geburtsh. u. Frauenheilk. 19. 11. 1910. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 11.
473 ZWEIG, Färbung der Sp. pallida in vivo nach MEIROWSKY. Med. Klinik. 1910. Nr. 21.

Tafelerklärung.

Tafel VII.

Figg. 1—7 nach MÜHLENS: „Vergleichende Spirochätenstudien“. Zeitschr. f. Hyg. 1907. Bd. 57. Vergr. 1350fach.

1 *Treponema pallidum* aus Primäraffekt. GIEMSA-Färbung 3 Stunden.
2 *Treponema pallidum* aus Leistendrüse. GIEMSA-Färbung 20 Stunden.
3 *Treponema pallidum* und *Spir. refringens*. GIEMSA-Färbung 3 Stunden.
4 *Treponema pallidum* aus Keratitis parenchymatosa, nach 48 stündigem Aufbewahren unter dem Deckglas im Brutschrank (Agglomeration und Anreicherung?). GIEMSA-Färbung 24 Stunden.
5 *Treponema pallidum*. Nebennierenausstrich von Lues congenita. GIEMSA-Färbung 20 Stunden.
6 *Treponema pallidum* in abgekratzten Gewebsstückchen von Keratitis des Kaninchens. GIEMSA-Färbung 24 Stunden.
7 *Treponema pallidum* in Lungengefäß, nach LEVADITI gefärbt.

Die Figg. 8—27 sind nach KRZYSZTALOWICZ und SIEDLECKI reproduziert.

8—10 Formen mit geißelartigen Endfäden.
11—15 Teilungsstadien.
16—18 Einrollungsformen.
19—20 Zusammengezogene Formen mit Ringbildung („formes contractées avec des anneaux“).
21—22 Ringformen („formes annulaires“).
23 Treponema mit Körnchenbildung.
24 „Forme grosse et courte“.
25 „Forme courte“ mit eingerolltem Ende.
26—27 „Désagrégation“ des Treponema.
28 Depressionsstadien (nach v. PROWAZEK).
29 Autogamie (nach v. PROWAZEK).

Tafel VIII.

Mikrophotogramme von Mühlens außer: Fig. 3 (nach Klein-Hamburg) und Figg. 1, 2 und 8 (von Zettnow nach Mühlens' Präparaten phot.). Fig. 3 = 1200 fach, die sämtlichen anderen 1000 fach vergrößert.

1 *Treponema pallidum* aus Primäraffekt (Mensch). Giemsa-Färbung.
2 *Treponema pallidum* und *Spir. refringens* aus Papel. Giemsa-Färbung.
3 *Treponema pallidum*, 1 Sternform, aus Leberausstrich von Lues congenita. Giemsa-Färbung.
4 *Treponema pallidum*, zum Teil Aufrollungen, aus Kaninchenprimäraffekt. Giemsa-Aceton-Methode nach Auslaugen in dest. Wasser
5 *Treponema pallidum*, Nebennierenausstrich (Lues congenita). Giemsa-Färbung.
6 *Treponema pallidum*, Kaninchenhoden - Primäraffekt, Tupfpräparat. Giemsa-Färbung nach Wässerung.
7 *Treponema pallidum*, Punktionssaft aus Kaninchenhoden. Agglomeration? Giemsa-Färbung nach vorheriger Wässerung in Aqu. dest.
8 Balanitisspirochäten in einer Epithelzelle. Giemsa-Färbung.
9 *Treponema pallidum* in Leberschnitt, nach Levaditi gefärbt.
10 *Treponema pallidum*, mittelgroße regelmäßige und lange „geknitterte" Form aus menschlichem Primäraffekt. Loeffler's Geißelmethode nach vorheriger Wässerung.
11 *Treponema pallidum.* Typische Formen aus menschlichem Primäraffekt. Loeffler-Methode wie 10.
12 *Treponema pallidum*, typisch + 2 Refringensexemplare, eine mit knopfartiger Verdickung in der Mitte. Von menschlichem Primäraffekt. Loeffler-Methode.
13 *Treponema pallidum.* Regelmäßige Formen aus Kaninchen-Primäraffekt. Loeffler-Methode.
14 *Treponema pallidum.* Große, teilweise „geknitterte" und kleine „geknitterte" Form; Kaninchen-Primäraffekt. Loeffler-Methode.
15 *Spir. refringens* aus Kaninchen-Primäraffekt mit undulierender Membran. Loeffler-Methode.
16 *Treponema pallidum.* Anscheinende Teilungsform? Anlagerung? Kaninchen-Primäraffekt. Loeffler-Methode.
17 *Treponema pallidum.* Teilungsform, Endstadium. Kaninchen-Primäraffekt. Loeffler-Methode.
18 *Treponema pallidum.* Kleine flache Form und Faden mit knopfartiger Anschwellung. Mensch-Primäraffekt. Loeffler-Methode.

Figg. 19—30. Verschiedene Stadien von Auf- bzw. Einrollungen bis zur Stern- und Ringbildung: große und kleine Formen, zum Teil mit knopfartigen Anschwellungen. Sämtliche Präparate sind nach vorherigem Wässern mit der Loeffler-Geißelmethode gefärbt. Figg. 19, 20, 22, 23, 24, 25—29 stammen von ziemlich frischen menschlichen, Figg. 21 und 30 von einem Kaninchen-Primäraffekt.

Tafel IX.

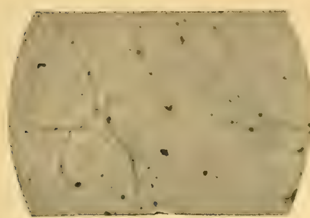
Mikrophot. Mühlens, außer 5 und 6 (nach Schaudinn).

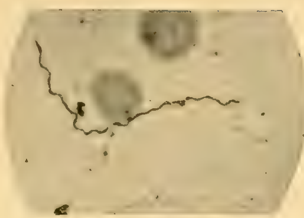
1 *Treponema pallidum*, sehr zahlreich in typischen und atypischen Formen in einem Leberausstrich. Loeffler-Beizefärbung nach Wässerung. 1000 fach.
2 *Treponema pallidum*, wie vor. (Tupfpräparat), zum Teil Aufrollungen. 1000 fach.

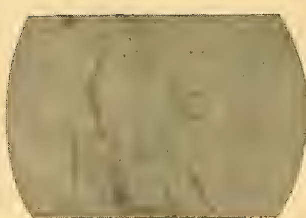


Verlag von Johann Ambrosius Barth in Leipzig

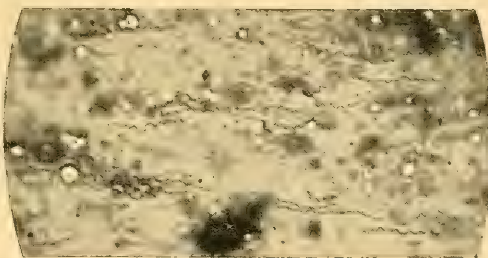
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

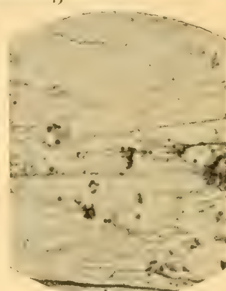

1

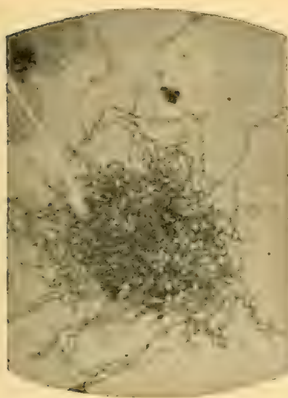

2

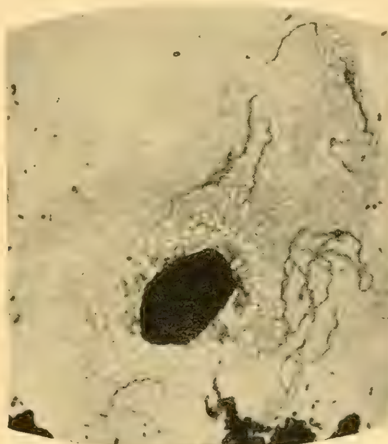

3

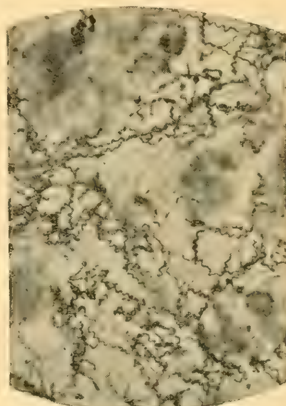

4


5

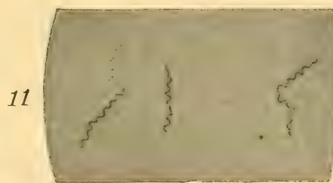

6


7


8

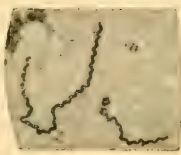

9

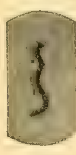

10

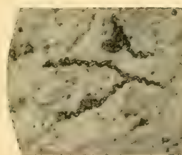

11

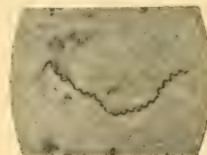

12


13


14


15


16

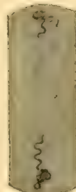

17


18

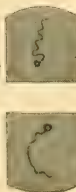

19


20


21


22

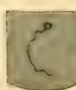

23


24


25

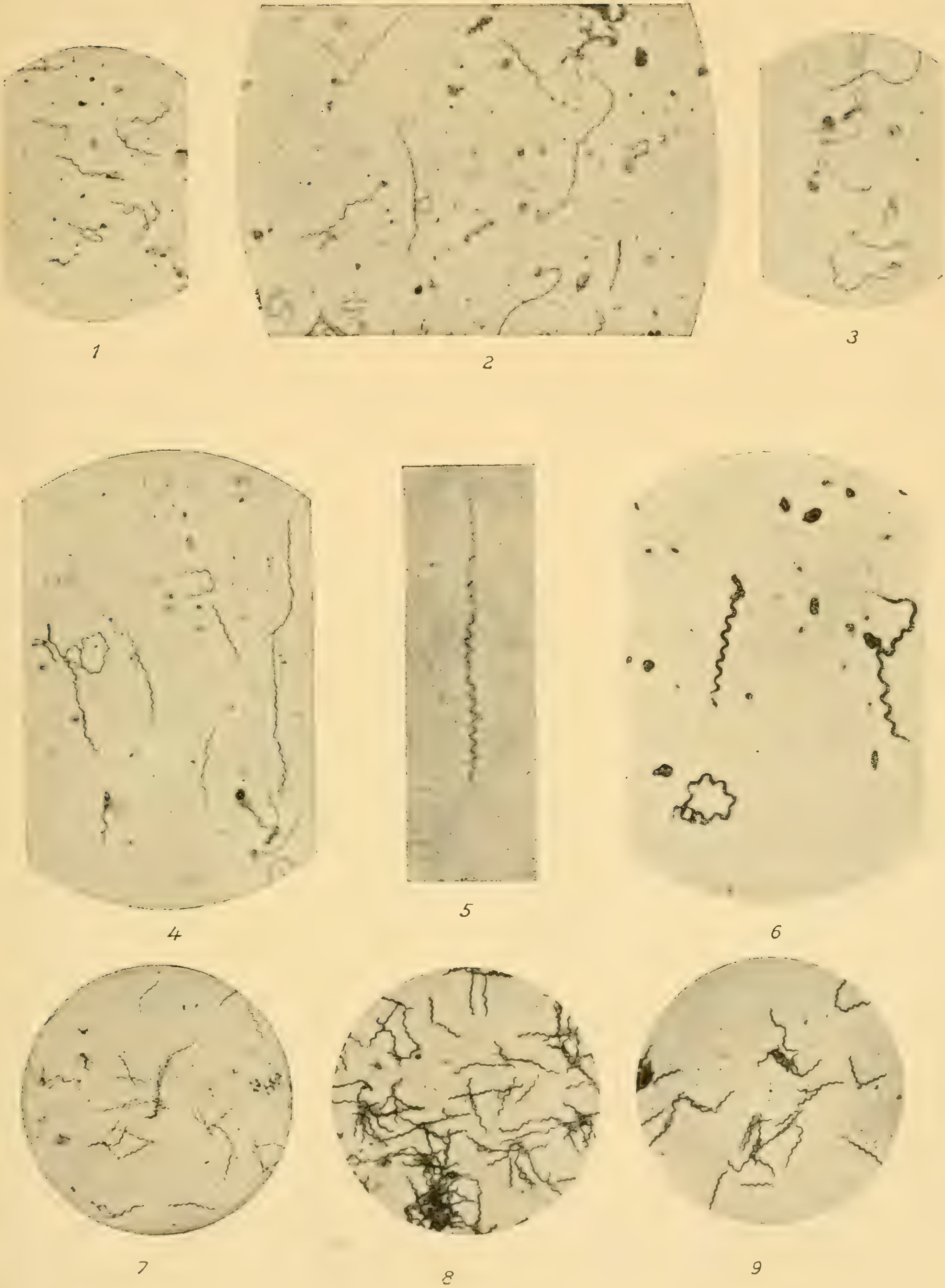

26

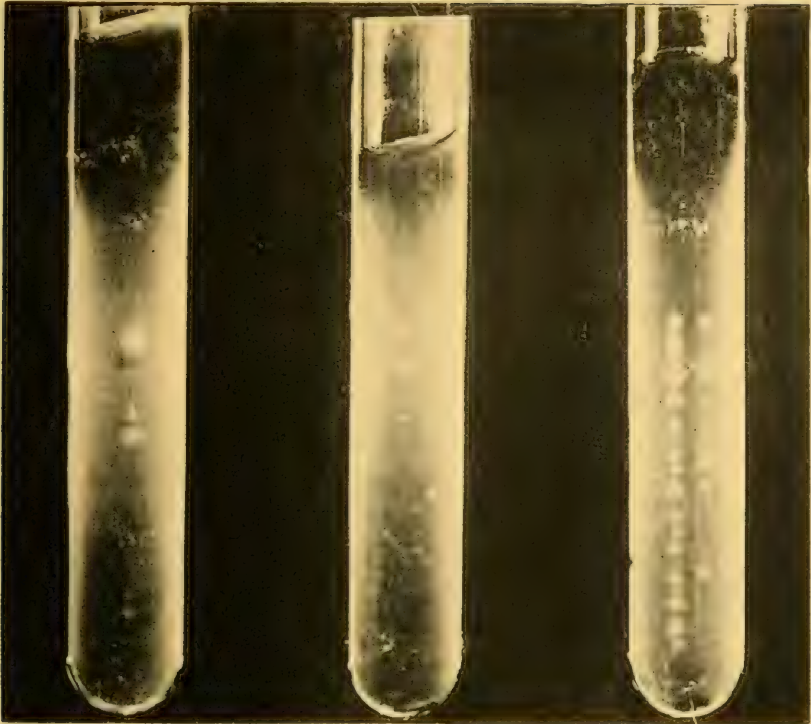

27


28

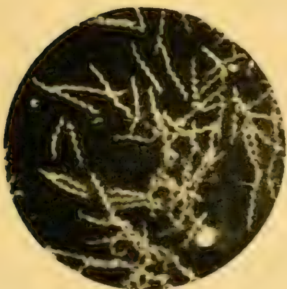

29


30


1
2
3
4
5
6
7
8
9



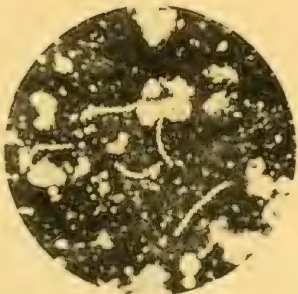
1 2 3



4



5



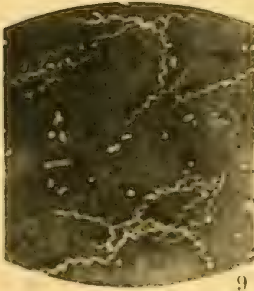
6



7



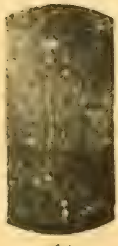
8



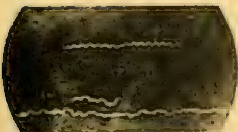
9



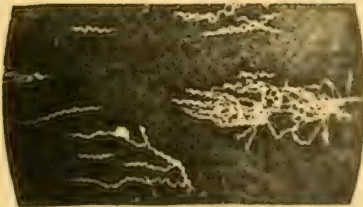
10



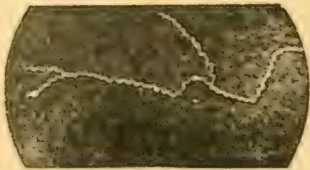
11



12



13



14

Fig. 1.

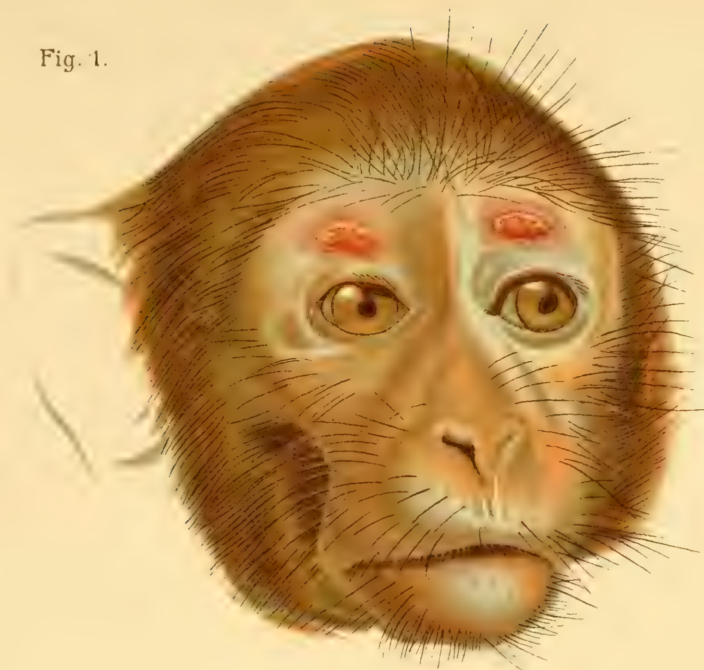


Fig. 2.



Landsberg gez.
Verlag von Johann Ambrosius Barth in Leipzig.
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

3 *Treponema pallidum.* Leberausstrich (Tupfpräparat) vom selben Organ wie 1 und 2. 2 Tage später. Atypische Formen. Färbung wie 1. 1000fach.

4 *Treponema pallidum.* Kaninchen-Primäraffekt. Loeffler-Methode. 1000fach. Zahlreiche, zum Teil sehr lange Exemplare; Aufrollungen.

5 *Treponema pallidum* (nach Schaudinn), stark vergrößert. Sehr langes Exemplar mit regelmäßigen Windungen. Loeffler-Methode.

6 *Treponema pallidum* (nach Schaudinn), stark vergrößert. Loeffler-Methode. „Geißel"-Anhänge.

7 *Treponema pallidum* aus Kultur (Mühlens), 1000fach. Giemsa-Färbung: Anwendung der Malaria-Färbung im dicken Blutstropfen.

8–9 *Treponema pallidum* aus Kultur (Mühlens), 1000fach. Loeffler-Methode.

Tafel X.

1 Treponema-Reinkultur (nach Mühlens); Stichkultur in Pferdeserumagar. Zettnow phot.

2 Treponema-Reinkultur. Schüttelkultur. Zettnow phot.

3 Treponema-Reinkultur. 2 Stiche. Zettnow phot.

4 Treponema-Kultur. Parasiten in Zeiss'schem Dunkelfeld mit starkem Trockensystem. 1000fach. Martini-Hamburg phot.

5 Treponema-Kulturformen in Leitz'schem Dunkelfeld, 900fach. Bergmann-Berlin phot.

6 Treponema aus Papelsaft in Leitz'schem Dunkelfeld, 1000fach. Bergmann-Berlin phot.

Figg. 7—14, sämtlich 1000fach, sind von Mühlens ebenso wie die Figuren der Tafel VIII und IX mit dem Zeiss'schen mikrophotographischen Apparat aufgenommen.

7 2 Treponemen aus menschlichem Primäraffekt. Tuschepräparat.

8 Kultur-Treponemen aus flüssiger 8 Tage alter Kultur. Tuschepräparat.

9 *Spir. refringens* aus Mischkultur, 9. Generation. Tuschepräparat.

10 Kultur-Treponemen mit teilweise unregelmäßigen Windungen, ältere Kultur. Tuschepräparat.

11 Treponema aus Kaninchen-Primäraffekt. Tuschepräparat.

12 Treponemen aus Kultur, ein typisches und 2 atypische Exemplare (1 kurzes und 1 langes). Tuschepräparat.

13 Treponemen aus Kultur, kurze und lange Exemplare Tuschepräparat.

14 Treponemen aus Kultur, lange Formen. Tuschepräparat.

Tafel XI.

Fig. 1. Affe mit beiderseitigem Primäraffekt der Augenbrauen. (Nach E. Hoffmann.)

Fig. 2. Kaninchen mit typischer Keratitis parenchymatosa. (Mühlens infiz. Aus der Sammlung des Instituts für Infektionskrankheiten, Berlin.)

Treponema pertenue (Castellani 1905).

Von

Prof. Dr. **P. Mühlens** in Hamburg.

Mit 4 Abbildungen im Text.

Inhaltsübersicht.

A. Einleitung.

Nicht lange nach Schaudinn's Entdeckung des *Treponema pallidum* wurden von A. Castellani (Juni 1905) auf Ceylon ähnliche Parasitenbefunde bei der Framboesia tropica berichtet (angeblich zuerst im Februar gesehen). Unabhängig von Castellani hatte auch Wellman (publ. Dezember 1905) denselben Befund in West-Afrika erhoben. Zu gleicher Zeit wurden die Castellani'schen Befunde auch bereits in unseren ostafrikanischen Schutzgebieten bestätigt (publ. Schutztruppenbericht 1907/08 S. 85), woselbst die Frambösie sehr verbreitet ist. Andere Bestätigungen aus den verschiedensten Ländern erfolgten durch von dem Borne (1906) aus Holländisch-Indien, Cornelissen (1906) aus Sumatra, M. Mayer (1907) an Material aus Ceylon und Deutsch-Ostafrika, v. Prowazek (1907) in Batavia, auch bei Affen, Schüffner (1907) auf Sumatra, Ashburn u. Craig (1907) auf den Philippinen, Robertson (1908) auf den Gilbert- und Ellice-Islands, ferner: in unseren meisten anderen Schutzgebieten. (Ziemann in Kamerun nach mündlicher Mitteilung auch schon im Jahre 1905 unter den Ersten, damals nicht publiziert.)

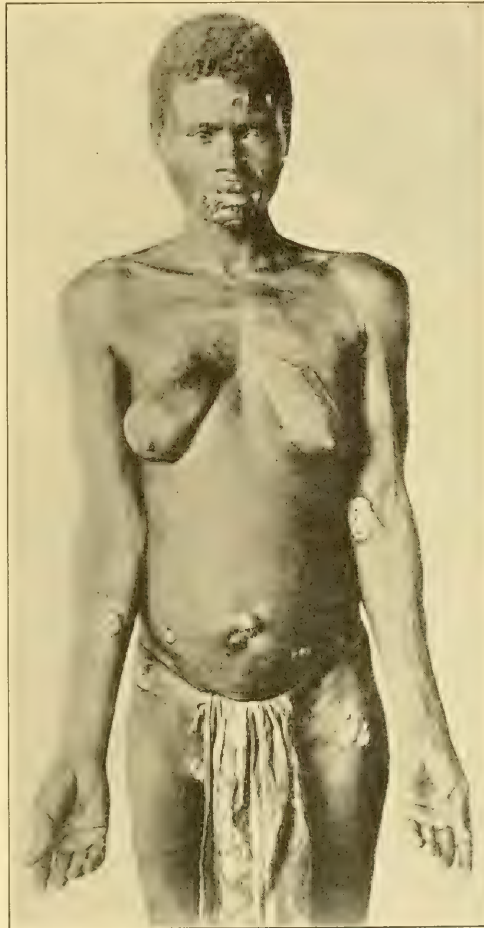


Fig. 1. Typische Frambösieeruptionen. Fall aus dem Nyassa-Land. (Fülleborn phot.)

Die durch das Auftreten von himbeerartigen (framboise = Himbeere) Papeln charakterisierte Krankheit (s. Fig. 1 und 3) ist in den meisten Tropenländern unter den Einheimischen mehr oder minder verbreitet. Bei den verschiedenen Völkern existieren besondere Namen, z. B. Yaws in den meisten englischen Kolonien, Pian auf den Franz.-Antillen und in anderen französischen Kolonien, Boubas in verschiedenen südamerikanischen Staaten (Venezuela, Brasilien), Puru in dem Malayischen Archipel, Parangi auf Ceylon, Tona auf Samoa, Coco auf den Fiji-Inseln usw. Castellani (1908) hatte Gelegenheit, Fälle von Parangi, Puru, Coco, Pian, Boubas sowie Frambösie von der Ostafrikaküste miteinander zu vergleichen. Dabei ließen sich morphologisch, tierexperimentell (Empfänglichkeit von Affen, Immunitätsverhältnisse) sowie auch durch die Komplementbindungsreaktion (Antikörper und Antigene der verschiedenen Arten identisch) keine Unterschiede nachweisen. Die Krankheiten sind also klinisch und biologisch miteinander

identisch. — Charlouis (1881) nannte die Krankheit entsprechend dem histologischen Befund „Polypapilloma tropicum". Die Histologie ist auch besonders eingehend von Henggeler (1904) beschrieben.

Klinik siehe in den Handbüchern der Tropenkrankheiten.

Der zuerst von Castellani bei Parangi gefundene, für spezifisch gehaltene Mikroorganismus wurde *Sp. pertenuis s. pallidula* genannt. Später (1908) nahm Castellani den von Schaudinn eingeführten Gattungsnamen „Treponema" an und gebrauchte die Bezeichnung „*Treponema pertenue*".

B. Vorkommen des *Treponema pertenue.*

Der Mikroorganismus wurde in den typischen Frambösiepapeln bei Mensch und infizierten Tieren fast regelmäßig nachgewiesen; in den jungen geschlossenen Affektionen in 90—100 % der Fälle (Castellani, Mayer, Schüffner u. a.). In solchen ist das Treponema ebenso wie in Drüsen und Milz (von Castellani zu etwa 50 % nachgewiesen) in der Regel der alleinige Mikroorganismus. Im peripheren Blut, in Cerebrospinalflüssigkeit und Urin konnte Castellani keine Treponemen finden; ferner mißlang ihm auch der Nachweis bei den der tertiären Syphilis ähnlichen Späterscheinungen. Dagegen war es Castellani möglich, mit durch Milzpunktion vom Menschen gewonnenen Blut einen Affen zu infizieren. In offenen Geschwüren sind die Treponemen weniger regelmäßig und nicht so zahlreich zu finden. Außerdem sollen daselbst außer Spirochäten vom Refringenstyp auch noch andere vorkommen, unter denen Castellani als besondere Formen nennt: 1. *Spirochaeta obtusa:* dünn und zart, mit an Größe und Zahl wechselnden Windungen und abgestumpften Enden; 2. *Spir. acuminata,* dünn und zart, an beiden Enden spitz zulaufend („tapering at both ends"). Daß es sich bei diesen beiden Typen wirklich um neue und besondere Arten handelt, ist noch nicht genügend begründet und bestätigt. Man muß bei solchen Formen auch immer an atypische Treponemenexemplare denken, zumal eine gewisse Formveränderlichkeit auch für das *Treponema pertenue* feststeht.

Über Treponemennachweis in tertiären Prozessen und bei den zur Frambösie gerechneten Formen von Gangosa (Rhinopharyngitis mutilans) liegen noch keine ein endgültiges Urteil gestattenden Untersuchungen vor.

C. Material und Untersuchungsmethoden.

Für die Materialentnahme, Fixierung und Färbung gilt genau das im Kapitel „*Treponema pallidum*" S. 375 ff. Gesagte, vielleicht in noch größerem Maße, da die Frambösie-Erreger meist weniger zahlreich und somit noch schwieriger nachzuweisen sind. Schüffner (1907) teilte mit, daß er anfänglich unter 104 Fällen in 81 % die Parasiten nachgewiesen habe. Bei 71 von diesen Fällen, die einer wiederholten Untersuchung unterzogen waren, betrug die Prozentzahl aber 98 %. Diese Differenz wird dadurch erklärt, daß die Treponemenzahl in den Ausstrichen schwankt und daß lange nicht eine jede Färbung brauchbar ausfällt. „Manche Fälle lieferten merkwürdig leere, andere reich mit Spirochäten besetzte Präparate." Schüffner gab auch an, daß er besonders intensive Färbebilder nach der Weidenreich'schen Osmium- oder nach Formalin-Fixierung erhielt.

Castellani empfahl für die Treponema-Färbung die Leishman- und die Giemsa-Methode. Beide gaben gute Bilder. Daneben sind natürlich auch die anderen guten Pallida-Darstellungsmethoden brauchbar, auch die Schnittuntersuchungsmethoden nach Volpino-Bertarelli und Levaditi. — Castellani gab folgende Methodik der **Leishman-Färbung** (siehe auch H. 1 S. 26) an:

1. Einwirkenlassen der Leishman-Farbe 5 Minuten lang, ohne vorherige Fixierung der lufttrockenen Ausstriche.

2. Mischen der Farbe mit gleichem oder doppeltem Volumen dest. Wassers; ½ bis mehrere Stunden Nachfärbung.

3. Spülen mit dest. Wasser. Einige Tropfen Wasser ½—1 Minute auf dem Präparate belassen.

4. Trocknen usw.

D. Morphologie und Biologie.

I. Lebenduntersuchung.

Auch bei dem Suchen nach dem Frambösie-Treponema leistet die Dunkelfeldbeleuchtung dieselben guten sicheren Dienste wie bei dem Pallidanachweis. Bisher liegen über Lebendbeobachtungen des *Tr. pertenue* nur wenig eingehende Mitteilungen vor. Am besten kann man die Bewegungen (ähnlich wie bei Pallida) an den an roten Blutkörperchen festhängenden Parasiten verfolgen. Wesentliche Unterschiede gegenüber dem *Tr. pallidum* sind nicht berichtet.

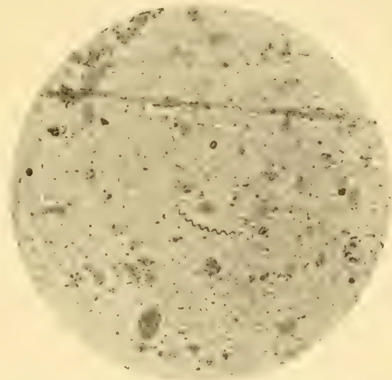


Fig. 2. *Treponema pertenue*, Giemsa-Färbung. (Mikrophot. 1000 fach.)

II. Untersuchung im gefärbten Ausstrich.

Nach Giemsa oder Leishman gefärbt nehmen die Treponemen die gleiche blaßrote Farbe an wie die Pallida. Eine sichere morphologische Unterscheidung ist — wenn überhaupt möglich — recht schwierig (s. Fig. 2). Castellani gab in seiner ersten Schilderung folgende Charakteristika an: Länge schwankt zwischen einigen und 18—20 μ oder noch mehr. Windungszahl verschieden, ziemlich zahlreich, 6—20 oder mehr; Windungen meist regelmäßig und von geringer Ausdehnung; zuweilen zeigt ein Teil des Parasiten regelmäßige, der andere überhaupt keine Windungen. In einzelnen Exemplaren dann und wann Chromatinkörnchen. Enden „meist spitzig", mitunter auch beide abgestumpft oder ein Ende spitz und das andere stumpf. Castellani glaubt, daß „diese letztere Veränderung durch die bei der Färbung vorgenommenen Manipulationen zustande kommen dürfte." Bei manchen Treponemen war ein Ende rundlich, birnförmig oder ösenartig umgebogen. Auch von dem Borne sah gewöhnlich an einem Ende „a circle-like or loop-like formation", weiterhin in gut gefärbten Präparaten 2 sehr dünne Geißelanhänge an einem Ende. Andere beobachteten eine dünne „Geißel" an einem Ende bei Färbung mit Loeffler's Geißelmethode. Während Blanchard (1906) angab, eine undulierende Membran gesehen zu haben, betonen andere, z. B. Castellani, ausdrücklich das Nichtgelingen des Nachweises. — Mayer (1907) hatte den Eindruck, als ob die Pertenuis noch feiner und schwerer färbbar sei als die Pallida. Im Gegensatz dazu halten andere Untersucher sie für dicker, so z. B. auch v. Prowazek (1907), der auf Grund eingehender vergleichender Untersuchungen in Batavia folgende Unterschiede angab: 1. Frambösiespirochäte etwas dicker, namentlich in dünnem, mit Aqua dest. reichlich verdünntem, nach Loeffler gefärbtem Material deutlich zu unterscheiden.

2. Windungen nicht so starr und regelmäßig; auf mehrere tiefe folgen oft ganz flache Wellen (ähnlich so auch von Castellani, Levaditi und Nattan-Larrier sowie anderen angegeben).

3. Enden meist stumpf, oft hakenförmig oder ösenartig umgebogen. Spirochätenfaden nicht so elastisch und formbeständig wie bei Syphilis.

4. Geißelartige Anhänge nicht so regelmäßig wie bei Luesspirochäte. Nur manchmal ist an dem einen Ende eine „Endgeißel" darstellbar.

5. Längsteilungen bei ihr häufiger und deutlicher als bei Syphilis.

Ähnliche Charakteristika gab zum Teil auch W. SIEBERT an, der das *Treponema pertenue* für im allgemeinen länger als die Pallida hielt.

VON DEM BORNE glaubte mitunter 2 Kerne gesehen zu haben. Und LOEHE hob hervor, daß die Frambösiespirochäte auf dem Gipfelpunkt der 2.—3. Windung eine stark lichtbrechende bezw. gefärbte körnchenartige Anschwellung zeigte.

WELLMAN sowie ASHBURN und CRAIG konnten die Frambösietreponemen von denen der Syphilis nicht unterscheiden. ASHBURN und CRAIG halten die Mannigfaltigkeit der Form von *Sp. pertenuis* für Kunstprodukte, durch Art des Ausstrichs, Fixierung und Färbung bedingt. Undulierende Membran und Endgeißeln sahen sie nicht.

Aus diesen kurzen Literaturzitaten ergibt sich, daß die Ansichten über die Morphologie des *Treponema pertenue* noch nicht in allen Punkten übereinstimmen, sich vielmehr zum Teil diametral gegenüberstehen. Zweifellos ist es richtig — das wissen wir auch vom *Tr. pallidum* —, daß die Art der Herstellung des gefärbten Präparates häufig die Form des Bildes beeinflußt. Daher ist bei Beurteilung der Morphologie stets die größte Vorsicht am Platze. Vergleichende Untersuchungen bei diesen feinen Mikroorganismen können nur dann Wert haben, wenn die absolut gleichmäßig behandelten Präparate von demselben geübten Untersucher unter gleichen Bedingungen (mit demselben Mikroskop, gleicher Beleuchtung usw.) unmittelbar nebeneinander untersucht werden. Derartige vergleichende Untersuchungen (wie die v. PROWAZEK's) mit exakten Messungen usw. liegen noch nicht in genügender Anzahl vor, um ein abschließendes Urteil bezüglich der Morphologie zu gestatten. Ob es überhaupt je gelingen wird, auf Grund des gefärbten Ausstriches die beiden Treponemen stets mit Sicherheit zu unterscheiden, erscheint zum mindesten zweifelhaft. Denn es darf nicht vergessen werden, daß alle die bei Frambösie beschriebenen Formen auch bei Lues vorkommen können, wenn auch zum Teil nicht ebenso häufig.

III. Untersuchungen in Schnittpräparaten.

Die Darstellung des Treponema im Gewebe nach der Methode von VOLPINO-BERTARELLI oder LEVADITI gelingt unschwer. Die Mitteilung von MAYER, daß ihm der Treponemanachweis in LEVADITI-Präparaten nie gelungen sei, ist wohl durch Versagen der Färbung zu erklären. SCHÜFFNER (1907) schilderte seine Schnittbefunde nach der VOLPINO-BERTARELLI-Methode folgendermaßen: Parasitenbefunde allein im Bereich der erkrankten Hautpartie, nur innerhalb der Epidermis; Lieblingssitz anscheinend Rete Malpighi. „Diese Schicht, die durch die Stachelzellen gebildet wird und durch Wucherung des Papillarkörpers enorm ausgezogen sein kann, birgt an manchen Stellen große Massen Spirochäten. Es sind die Stellen, die sich durch reichliches Austreten von Eiterzellen, Zerfall und Einschmelzung der Stachelzellen — Bildung miliarer Abszesse — und Erweiterung der Saftkanäle kennzeichnen. Wo dieses zellige Exsudat fehlt, kommen höchstens vereinzelte Spirochäten vor." Bestimmtes über die Beziehungen zu den Zellen konnte SCHÜFFNER nicht aussagen, wenn er auch den Eindruck hatte, „daß die Spiralen allein in den Saftkanälen lagen; ja die Wand der Kanäle war bisweilen förmlich von ihnen ausgekleidet". In manchen Fällen erschien das Rete völlig von Parasiten durchsetzt, in anderen lagen die Treponemen mehr „nesterweise". Die gleichmäßigen Parasiten mit 8—16 Windungen lagen wirr durcheinander. — Ähnliche

bzw. gleiche Schnittbefunde erhoben auch die anderen Untersucher, z. B. SIEBERT (1907/08), ASHBURN und CRAIG (1907), MARSHALL (1908), SHENNAN (1908) u. a. Der wichtigste Befund ist der, daß die Treponemen nur in der Epidermis liegen, wobei die abgegrenzte Leukozytose eine Rolle spielt (SIEBERT). Das Epithel ist schwer geschädigt (Hyperkeratose, Zellzerstörungen), das Corium bleibt normal, Gefäßveränderungen bestehen nicht oder sind nur sehr gering. SIEBERT erwähnte, daß er in Papeln, in denen die Epidermis fehlte und der Papillarkörper freilag, keine Treponemen fand. Ferner gab er an, die Pallidula sei in Schnitten meist morphologisch von der Pallida durch die meist dickere Form sowie unregelmäßigere und weitere Windungen zu unterscheiden.

IV. Entwicklungsformen des *Treponema pertenue.*

Außer v. PROWAZEK hatte auch schon VON DEM BORNE (1906) **Längsteilungsstadien** beschrieben und abgebildet. ASHBURN und CRAIG (1907) beobachteten Formen, die man als Längs-, andere als Querteilung, andere als „Konjugation" auffassen könnte.

v. PROWAZEK erwähnt auch **„Ruhestadien"**, die dadurch zustande kämen, daß die „Endanschwellungen verbunden mit endständiger Schlingen- und Ösenbildung (S. 477) weiter vorschreiten und sukzessive den ganzen Spir-Faden erfassen". Weiterhin sagt v. PROWAZEK: „Viele andere Stadien bildet auch v. d. BORNE ab, der sie für Jugendstadien dieses Parasiten hält." — v. d. BORNE glaubte beobachtet zu haben, daß die Treponemen sich aus kleinen ringförmigen Körpern entwickelten.

CASTELLANI hatte in einer seiner ersten Mitteilungen die folgende Beobachtung erwähnt: „Außer den Spirochäten findet man in seltenen Fällen gewisse eigentümliche Körper, die gewöhnlich oval oder rundlich, 5—8 μ lang sind und einen Durchmesser von 4—6 μ haben, doch kommen auch größere oder kleinere vor. Sie färben sich nach LEISHMAN leicht lila oder blau und enthalten Chromatin. Es erscheint entweder in der Nähe der Pole oder über den ganzen Parasiten verteilt. Ob diese Körper in irgendwelchem Zusammenhang mit dem Entwicklungsstadium der Spirochäten stehen oder nicht, muß ich noch dahingestellt sein lassen."

ROBERTSON suchte einen **Entwicklungszyklus** zwischen einem Protozoon und dem Treponema zu konstruieren. Bei Versuchen, die Fliegenübertragung festzustellen, fand er im Zentrifugat von Wasser, in dem Fliegen ausgewaschen waren, außer Spirochäten protozoenartige Gebilde von der 3- bis 4fachen Größe eines Eiterkörperchens, in denen zum Teil Spirochäten lagen, die dem *Treponema pertenue* sehr ähnlich sahen. ROBERTSON neigte zu der Ansicht, daß — wenn die Spirochäte sich als die CASTELLANIsche erweisen sollte — das Prozotoon das Muttertier („parent bodie") der Spirochäten sei, die demgemäß vielleicht das Endstadium in dem Entwicklungszyklus des Protozoons darstellten. — Diese Theorie erscheint nach allem, was wir heute von der Lebensgeschichte der Treponemen wissen (insbesondere Kultur), sehr unwahrscheinlich.

Kultur. Während die Züchtungsversuche der meisten Untersucher (nur ASHBURN und CRAIG berichteten über Anreicherung in mit Serum von Frambösiepapeln gefüllten Kapillarröhrchen, nach 34 Tagen noch lebende Spirochäten) erfolglos waren, teilte NOGUCHI (1911) kürzlich mit, daß ihm die Kultur des Frambösie-Treponema in derselben Weise gelungen sei wie die des *Treponema pallidum* (Siehe S. 418). Als Ausgangsmaterial für die Kultivierung hatte er Kaninchenhodenpassagevirus, von NICHOLS angelegt, benutzt.

Filtration. Die Frage, ob eventuell ein ultramikroskopisches Treponema-Stadium existiert, ist durch CASTELLANI's Filtrationsversuche in negativem Sinne beantwortet: Mit durch Berkefeldfilter (12a) filtriertem Material ließen sich Affen nicht mehr infizieren.

V. Immunitätsverhältnisse.

Die Immunität ist wie bei der Syphilis höchstens nur eine relative, anscheinend in noch geringerem Maße. Charlouis (1881) berichtete gelungene Autoinokulationen. Castellani und Chalmers (1910) gaben an, daß Leute mit alten Frambösieaffektionen daneben mit frischen infiziert werden können. — Bei Tieren gelangen Reinfektionen bei bestehender Krankheit nicht (Neisser und Mitarbeiter). Halberstädter (1907) sagt: „Es wird durch die Erkrankung nicht eine absolute Immunität bewirkt, sondern nur eine herabgesetzte Empfänglichkeit, die aber ausreicht, um bei dem natürlichen Infektionsmodus gegen eine neue Infektion zu schützen, und bei den an und für sich viel weniger empfänglichen Affen das Haften des Virus bei einer Reinokulation zu verhindern. Bei künstlichen Übertragungen jedoch, bei denen das Virus viel reichlicher und energischer eingebracht wird, kann es beim Menschen doch noch gelingen, mit positivem Erfolg zu reinokulieren.“ — In Afrika und Asien infizieren manche Eingeborene absichtlich die Kinder, um sie für das spätere Leben immun zu machen. Diese Immunität ist aber keine vollständige (Castellani).

Nach Castellani gelingt durch die Bordet-Gengou'sche (Wassermann'sche) Reaktion der Nachweis spezifischen Antigens bzw. Antikörper. Sie seien von den syphilitischen verschieden (Affenversuche, daher nicht einwandsfrei).

Bowman konnte mit Frambösieserum keine Komplementbindung bei Anwendung von Meerschweinchenherzextrakten als Antigen im Gegensatz zum syphilitischen Serum erzielen.

Nach Baermann (1910) läßt die W.'sche Reaktion bei der Differenzierung von Frambösie und Lues vollständig im Stich.

In dieser Hinsicht sind noch größere Untersuchungsreihen erforderlich.

VI. Natürliche Übertragung.

Daß die direkte Übertragung beim Menschen (wie bei Syphilis) gelingt, ist schon durch Versuche von Paulet (1848) und Charlouis (1881) bewiesen worden. Charlouis konnte bei 28 von 32 mit Frambösie-Papelsaft geimpften Chinesen eine gelungene Übertragung feststellen. — Auch die meisten anderen Beobachter nehmen die **Kontaktinfektion** als gewöhnlichen Übertragungsmodus des *Treponema pertenue* an; manche halten aber außerdem die Möglichkeit einer Überimpfung **durch Insekten** nicht für ausgeschlossen, so durch Fliegen und Mücken, die an Framboesiepapeln gesogen haben. Im Lehrbuch von Castellani-Chalmers ist erwähnt, daß einmal die künstliche Übertragung durch Fliegen gelang, die an Frambösiepapeln gesogen hatten und dann an die skarifizierten Augenbrauen von Affen gesetzt wurden. — von dem Borne fand zweimal im Magensaft von Culexmücken, die in direkter Umgebung von Frambösiekranken gefangen waren, lebende Treponemen von typischer Form. Robertson hat an bzw. in Fliegen Treponemen nachgewiesen und glaubt auch an die Möglichkeit einer Fliegenübertragung. Bei einer solchen wird es sich dann aber nur um eine direkte Überimpfung ohne Zwischenentwicklung handeln. — Modder nimmt eine Übertragung durch Zecken an, und zwar auf Ceylon durch Argas- und Ixodesarten. Im Schutztruppenbericht 1907/08 wird Zeckenübertragung für sehr unwahrscheinlich gehalten.

Nach Castellani erfolgt die Übertragung häufig bei der Schutzpockenimpfung. Ferner werden auch stillende Frauen nicht selten von ihren Kindern infiziert; Primäraffekte dann an der Mamma. Das Virus haftet anscheinend leicht.

Eine erbliche Übertragung scheint nicht vorzukommen.

E. Tierexperimentelle Untersuchungen.

I. Übertragung auf Affen.

Schon im Jahre 1906 hatten NEISSER, BAERMANN und HALBERSTÄDTER berichtet, daß sie Frambösie auf höhere und niedere Affen übertragen konnten, daß ferner die Weiterimpfung von Makaken zu Makaken von primärer Effloreszenz und mit Knochenmarkbrei gelang. CASTELLANI gelang u. a. die Affeninfektion mit Milzpunktat von einem Frambotiker. Somit war die Generalisation des Virus im Körper bewiesen. Ferner hatten die zuerst Genannten auch festgestellt, daß mit Lues infizierte Tiere noch für Frambösieimpfung empfänglich waren und umgekehrt (später nochmals von HALBERSTÄDTER (1907) sowie CASTELLANI (1907) bestätigt bzw. erweitert).

Die **Impftechnik** entspricht der auf S. 423 geschilderten bei Luesimpfungen. Niedere Affen werden an den Augenbrauen, höhere eventuell auch sonstwo (z. B. an der Bauchhaut) geimpft.

Bezüglich der **Affen-Frambösie** steht kurz zusammengefaßt folgendes fest: Nach einer Inkubation von meist 2—7 Wochen (mitunter noch länger bis 96 Tagen) zeigt sich als Primärläsion ein Infiltrat an der Impfstelle, meist geringer als bei Lues und ohne blau-violette Verfärbung; später ist es (wie bei Lues) mit gelblicher, fest anhaftender Borke bedeckt. NICHOLS schildert den Frambösie-Primäraffekt von erhabenem, ödematösem, leicht schuppigem Aussehen gegenüber dem flachen, trockenen, stark schuppenden Charakter des syphilitischen Initialaffekts. Durch Überimpfung einer Affektion auf Affen lasse sich die Differentialdiagnose stellen; bei Frambösie sei auch die Inkubation kürzer (2—3 Wochen) als bei Syphilis (4 Wochen). Diesem letzteren Argument kann aber nach dem vorhin Gesagten nicht zugestimmt werden. — Auch NEISSER u. a. hatten auf das verschiedene Aussehen der Primärläsionen hingewiesen. LOEHE beschreibt die Primäraffektion bei Affen als spitzborkig, papilliform. — Lymphdrüsenschwellungen hatte HALBERSTÄDTER bei niederen Affen nicht, dagegen beim Orang-Utan in der Achselhöhle festgestellt. Häufig bleibt der sichtbare Krankheitsprozeß bei den niederen Affen lokalisiert und es treten nach spontaner Abheilung des Primäraffekts (im Verlaufe von 3—12 Wochen) keine Erscheinungen mehr auf. Nicht selten aber entstehen an der Impfstelle lokale serpiginöse Rezidive, die sich über große Hautpartien ausbreiten können, ähnlich wie bei Lues, nach HALBERSTÄDTER sogar häufiger als bei Lues. Bei einem Orang-Utan hat HALBERSTÄDTER eine **Allgemeineruption** von Frambösiepapeln, etwa 4 Monate nach der Impfung beobachtet.

In den Papeln, die sich auf niedere Affen weiterimpfen ließen, fanden sich reichlich Treponemen. — Während NEISSER und seine Mitarbeiter bei niederen Affen niemals Sekundärerscheinungen feststellen konnten, ist in einem Referat über CASTELLANI's Vortrag auf dem VI. Dermatol. Kongreß New-York (s. Centralbl. f. Bakt. 1909) erwähnt, daß CASTELLANI bei „3 Affen sekundäre Erscheinungen beobachten“ konnte. — Daß die Infektion auch bei niederen Affen eine generalisierte ist, geht nicht nur aus den schon genannten Impfungen NEISSER's und anderer hervor, sondern auch aus dem Treponemanachweis in Milz- und Lymphdrüsen (CASTELLANI).

HALBERSTÄDTER betonte ausdrücklich, daß er die CASTELLANI'sche Spirochäte bei allen mit positivem Erfolg geimpften Tieren in Primär- und Sekundärläsionen und auch „besonders reichlich“ in den lokalen Rezidiven fand.

LOEHE konnte Frambösie auch auf eine Halbaffenart, sog. Seidenäffchen übertragen; positive Impfung gelang an Augenbrauen und auch am Hoden.

II. Übertragung auf Kaninchen.

NICHOLS (1910) gelang es, die experimentelle *Trep. pertenue*-Infektion von der Affenaugenbraue durch Injektion von Reizserum auf den Kaninchenhoden zu über-

tragen. Im vergrößerten Hoden entstanden erbsen- bis olivengroße Knoten. Histologisch ergab sich: Nekrose der Hodenkanälchen, Rundzelleninfiltration und Neubildung von ödematösem Bindegewebe. In dem Hoden fanden sich zahlreiche lebende Treponemen. Weiterübertragung gelang; dabei nahm die Inkubation von 41 auf 18 Tage ab.

LOEHE (1909) hatte kein Resultat bei seinen Versuchen der Impfung der Kaninchenkornea infolge auftretender Panophthalmie.

III. Übertragung auf andere Tiere.

In SCHEUBE's Handbuch ist angegeben, daß HIRSCH bei Hühnern durch Impfung mit Sekret von Frambösie-Papeln typische Erscheinungen erzielt habe. — In der Literatur wird ferner berichtet, daß bei Hühnern, Rindern, Pferden und Affen frambösieartige Erscheinungen beobachtet wurden. Ob diese etwas mit der menschlichen Framboesie zu tun haben, steht noch nicht fest.

F. Chemotherapie.

Von Interesse sind die Behandlungserfolge mit den organischen Arsenpräparaten, insbesondere „Salvarsan". — NEISSER und HALBERSTÄDTER konnten Affen-Frambösie mit Atoxyl (mehrmals 0,1 g) heilen.



Fig. 3. Framboesia tropica vor der Behandlung. (Nach R. STRONG.)



Fig. 4. Derselbe Fall, 12 Tage nach Salvarsanbehandlung. (Nach R. STRONG.)

Nichols (1910) teilte mit, daß er bei den mit Frambösie infizierten Kaninchen schon 24 Stunden nach Salvarsaninjektion keine Spirochäten mehr nachweisen konnte. Die Papillome verschwanden 2—3 Tage nach der intravenösen Injektion; bei infizierten Affen erst in 21 Tagen. — Strong (1910) hatte auf den Philippinen überraschend schnelle Heilungen mit einmaliger Salvarsaninjektion beim Menschen, 0,25—0,3 g bei Kindern und 0,4 bis 0,5 g bei Erwachsenen (S. Abb. 3 u. 4). (Nur bei alten Ulzerationen war eine zweite Injektion erforderlich.) Wenige Tage nach der Injektion waren keine Parasiten mehr nachzuweisen; in 6 Monaten keine Rezidive. Strong (1911) bezeichnete das Ehrlich'sche Päparat als „ideales Spezifikum gegen Frambösie". — Castellani (1911) hatte ähnliche gute Resultate auf Ceylon; in alten inveterierten Fällen nur Besserung, keine Heilung; hier seien vielleicht größere Dosen notwendig. — Gute Behandlungserfolge hatten ferner auch Rost (1911) in Brit.-West-Indien, Flu (1911) an sehr großem Material u. a.

Die Wirkung des Dioxydiamidoarsenobenzols ist höchstwahrscheinlich als eine treponemazide anzusehen.

Von großem Interesse sind noch Versuche von Alston (1911) in Brit.-West-Indien. Er erzielte mit dem Serum von mit Salvarsan behandelten Frambösiekranken, je 16 ccm bei nicht behandelten Patienten injiziert, auffallende schnelle Heileffekte. Der Erfolg war schon nach 16 Stunden bemerkbar. Dasselbe Heilresultat gab auch wieder das Serum der Serumbehandelten. Die wirksamen Bestandteile des Serums waren gegen Erhitzen resistent. Serum von Gesunden und von nicht mit Salvarsan bzw. Serum behandelten Frambösiekranken hatte keinerlei therapeutische Eigenschaften. — Weiterhin zeigte sogar die Milch einer mit Salvarsan gespritzten Ziege bei Säuglingen guten Erfolg. — Sicherlich ist dann ähnlich wie bei Lues auch eine Heilwirkung von Milch der mit „606" behandelten Frauen zu erwarten.

G. Frambösie und Syphilis, *Treponema pertenue* und *Treponema pallidum.*

Die Frage: Sind Syphilis und Frambösie identisch? wurde schon lange vor der Entdeckung der Treponemen lebhaft diskutiert. Während z. B. Charlouis (1881) die beiden Krankheiten durch Immunitätsverhältnisse trennte, glaubten Hutchinson (1900) u. a. an die Identität. Frambösie sei die Mutterkrankheit, aus der sich die europäische Syphilis durch Anpassungsvorgänge an Rassen, Klima usw. entwickelt habe. In der Tat ähneln sich ja die klinischen Symptome zum Teil sehr. Selbst erfahrene Tropenärzte und Hautspezialisten (Neisser und Mitarbeiter, Schüffner u. a.) mußten zugeben, daß sie sich in vielen Fällen nicht für eine bestimmte klinische Diagnose entscheiden konnten. Auch das gleiche Verhalten gegenüber den chemotherapeutischen Mitteln deutet auf nahe Beziehungen hin. Auf die Schwierigkeit bzw. Unmöglichkeit der Unterscheidung der Erreger in jedem Einzelfalle ist schon hingewiesen (S. 477). Auch heutzutage sind noch manche Autoren der Ansicht, daß die beiden Krankheiten identisch sind bzw. daß die Frambösie eine abgeschwächte Form der Syphilis sei (z. B. Levaditi und Nattan-Larrier). Schüffner sagt: „Die Syphilis wird aufgelöst in eine Gruppe selbständiger Krankheiten" (ähnlich wie Tuberkulose, Dysenterie u. a.). Die Frambösie sei als selbständige Krankheit neben die Syphilis zu stellen, „als eine zweite Syphilis, in demselben Verhältnis etwa wie die Malaria tertiana neben der perniciosa." Branch erkennt auf Grund seiner langjährigen nicht geringen Erfahrungen in Westindien einen Unterschied nicht an. Yaws sei die nicht venerische (manchmal auch venerische) Syphilis der Tropen.

Will man selbst zugeben, daß die beiden Treponemen morphologisch nicht zu

unterscheiden sind, dann braucht man damit noch keineswegs die Identität anzuerkennen (Analogien: Hühner- und Rekurrensspirochäten, Nagana- und Schlafkrankheits- sowie andere Trypanosomen usw.). In mancherlei Hinsicht lassen sich bestimmte Differenzen zwischen Frambösie und Lues feststellen, die im folgenden kurz gegenübergestellt sind:

	Syphilis:	Framboesie:
Verbreitung:	Pandemisch, vorwiegend in Städten.	In Tropen, vorwiegend auf dem Lande.
Übertragung:	Meist genital. Ist erblich übertragbar.	Meist extragenital. Nicht erblich.
Primäraffekt:	Aussehen bei beiden verschieden, besonders deutlich bei Affeninfektion (p. 481).	
Histologie:	Induration mit Gefäßneubildung, Treponemalagerung im Bindegewebe, in Lymphspalten, Blutgefäßen usw.	Papillom. Treponemen in Epidermis, hauptsächlich im Rete Malpighi.
Effloreszenzen:	Polymorph, nicht juckend.	Meist uniform, sehr häufig juckend.

Jede der beiden Krankheiten hat gewisse nur ihr allein zukommende charakteristische Erscheinungen (z. B. Frambösie: gewisse Knochenaffektionen, Periostitis framboetica infantilis nach Schüffner; Syphilis: die parasyphilitischen Nachkrankheiten, mitunter auch Darmaffektionen; bei Frambösie keine viszeralen Veränderungen).

	Syphilis:	Framboesie:
Immunitätsverhältnisse:	Schützt nicht gegen Frambösie.	Schützt nicht gegen Syphilis.

(Versuche von Charlouis am Menschen sowie von Neisser und seinen Mitarbeitern, Castellani u. a. an Affen.)

Diese Gegenüberstellungen sagen deutlich genug, daß von einer absoluten Identität keine Rede sein kann, wenn auch eine nahe Verwandtschaft zugegeben werden darf. Eine ganze Reihe namhafter Forscher (Charlouis, Neisser, Halberstädter, Castellani, Ashburn und Craig, Strong u. a.) halten die beiden Krankheiten für verschieden. Neisser sagt: „Nach meiner Überzeugung sind Syphilis und Frambösie ätiologisch vollkommen differente Krankheiten, die in demselben Tier nebeneinander vorkommen können und sich nicht beeinflussen.“

H. Spezifische Bedeutung des *Treponema pertenue* für die Frambösie.

Für die spezifische Bedeutung des *Treponema pertenue* sprechen die folgenden Gründe: 1. Nachweis in allen, insbesondere alleiniges Vorkommen in den geschlossenen menschlichen Frambösie-Effloreszenzen sowie auch in Drüsen und Milzblut. 2. Vorhandensein bei der experimentell erzeugten Tier-Frambösie, selbst in Passagen und inneren Organen. 3. Fehlen in nicht zur Frambösie gehörenden tropischen Hautaffektionen. 4. Spezifisches Verhalten der Treponemen gegenüber organischen Arsenpräparaten.

Das *Treponema pertenue* ist als Erreger der Framboesia tropica anzusehen. Die Erzeugung der Krankheit mit der Reinkultur dürfte auch wohl bald nach den neueren Erfahrungen bei dem *Treponema pallidum* gelingen.

Abgeschlossen im Dezember 1911.

Literatur.

1 ALSTON, H., Salvarsan bei Frambösie. Brit. med. Journ. 1911. 18. II. u. 18. III.
2 ASHBURN, P. M. u. CRAIG, CH. F., Treponema pertenuis CASTELLANI of yaws and the experimental production of the disease in monkeys. Phil. Journ. of Science. 1907. Bd. II. No. 5.
3 BAERMANN, G., Wassermann'sche Reaktion in den Tropen. Münch. med. Wochenschr. 1910. No. 41.
3a BAERMANN u. HALBERSTÄDTER, Experimentelle Versuche über Framboesia tropica an Affen. Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Indië. 1906. Deel 46. p. 185.
4 DE BEURMANN u. GOUGEROT, La pian et la syphilis, maladies spirillaires. Revue de méd. 1907. No. 5.
5 VON DEM BORNE, E. W. K., Voorkomen van Spirochaeten by Framboesia tropica. Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Indië. 1906. Deel XLVI. p. 86 u. 409.
ferner: Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1906. II. Nr. 13.
6 Derselbe, Observations in the presence of the spirochaete pertenuis (CASTELLANI) in yaws etc. Journ. of trop. Med. 1907. No. 21.
7 BOWMAN, F. B., Complement fixation in Yaws. Phil. Journ. of Science. 1910. Vol. V No. 5.
8 BRANCH, C. W., Yaws. Ann. of trop. Med. 1907. Bd. I. H. 3.
9 CASTELLANI, A., Presence of spirochaetes in Parangi (Yaws). Journ. of the Ceylon Branch of the British Med. Ass. 17. 5. 1905. Journ. of trop. Med. Aug. 1905. Brit. Med. Journ. 1905. No. 2342. Ferner: Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 4.
10 Derselbe, Is yaws syphilis? Journ. of Trop. Med. 1906. No. 1.
11 Derselbe, Framboesia tropica. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1907. H. 1.
12 Derselbe, Experimental investigations on Framboesia tropica. Journ. of Hyg. 1907. Bd. 7. No. 4.
13 Derselbe, Spirochaeta pertenuis. Brit. med. Journ. 1907. No. 2447. Ferner: Ann. di Med. nav. 1907. II. Fasc. 1.
14 Derselbe, Framboesia tropica. VI. Dermatol.-Kongr. New York 1907.
15 Derselbe, Comparative experimental studies on cases of Framboesia contracted in various parts of the Tropics. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908. H. 10.
16 Derselbe, Observations on the treatment of yaws (Framboesia). Lancet 1907. No. 4395.
16a Derselbe, The use of EHRLICH's 606 in Framboesia. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1911. H. 1.
17 CASTELLANI, A. u. CHALMERS, A. J., Manual of Tropical Medicine. London 1910. Baillière, Tindall and Cox.
18 CHARLOUIS, Über Polypapilloma tropicum. Vierteljahrsschr. f. Dermatol. u. Syph. 1881. S. 431.
19 CORNELISSEN, Jaarverslag der werkzamheden van de afdeeling Sumatras Oostkust der vereeniging tot bevordering der Geneeskundige wetenschappen in Nederl. Indië 1906.
20 FLU, O. C., Bericht über die Behandlung von 700 Fällen von Framboesia tropica und 4 Fällen von Pian Bois mit Salvarsan. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 45.
21 GIMLETTE, T. D., The Puru of the Malay Peninsula. Journ. of trop. Med. 1906. No. 10.
22 HALBERSTÄDTER, L., Weitere Untersuchungen über Framboesia tropica an Affen. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. 1907. Bd. XXVI. H. 1.
23 HENGGELER, Über einige Tropenkrankheiten der Haut. Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1904. Bd. 40. H. 5.
24 HOWARD, R., Tertiary Yaws. Journ. of trop. Med. 1908. No. 13.
25 HUTCHINSON, J., Yaws. Journ. of trop. Med. 1900. p. 23.
26 LENZ, Beitrag zur Kenntnis der tropischen Frambösie. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1909. H. 11.
27 LEVADITI, C. u. NATTAN-LARRIER, L., Contribution à l'étude microbiologique et expérimentale du Pian. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1908. T. 22. No. 3. und: Compt. rend. Soc. biol. 1908. T. 64. No. 1.

28 Lindenberg, A., La Framboesia tropica au Brésil. Bull. de la Soc. de Path. exot. 1909. No. 8.

29 Loehe, H., Fall von Framboesia tropica mit parasitologischen und experimentellen Untersuchungen. Dermatol. Zeitschr. 1909. Bd. XII. S. 229.

30 Marshall, H. T., Framboesie. Phil. Journ. of Science. 1908. Vol. II. No. 5.

31 Mayer, M., Spirochätenbefunde bei Frambösie. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 12.

32 Medizinalberichte über die Deutschen Schutzgebiete. 1907/08. Berlin, E. S. Mittler, 1909. S. 85ff.

33 Modder, E. E., Transmission of Yaws by ticks. Journ. of trop. Med. 1907. No. 11 u. 22.

34 Neisser, Baermann u. Halberstädter, Experimentelle Versuche über Framboesia tropica an Affen. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 28.

35 Neisser, A., Atoxyl bei Syphilis u. Frambösie. Deutsche med. Wochenschr. 1907. Nr. 38 u. 43.

36 Derselbe, Sind Syphilis und Frambösie verschiedene Krankheiten? Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908. H. 6.

37 Nichols, H. J., Experimental yaws in the monkey and rabbit. Journ. of exper. Med. 1910. Vol. 12. p. 616. und: Journ. of Americ. med. Assoc. 16. 7. 1908.

38 Noguchi, H., Reinkulturen von pathogenen Spir. pallida u. Sp. pertenuis. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 29.

39 v. Prowazek, S., Vergleichende Spirochaetauntersuchungen. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. 1907. Bd. XXVI. H. 1.

40 Robertson, A., Diseases of the Gilbert and Ellice Islands. Journ. of trop. Med. 1908. No. 2.

41 Derselbe, Flies as carriers of contagion in Yaws (Framb. tropica). Journ. of trop. Med. 1908. No. 14.

42 Derselbe, Preliminary note on a protozoon in Yaws. Journ. of Trop. Med. 1908. No. 21.

43 Rost, G., Salvarsan bei Frambösie usw. Münch. med. Wochenschr. 1911. H. 21.

44 Scheube, B., Krankheiten der warmen Länder. G. Fischer, Jena, 1910.

45 Schüffner, W., Spirochaeta pertenuis u. das klinische Bild der Framboesia tropica. Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 28.

46 Shennan, Th., The localisation of spirochaetes in the papules of Yaws. Journ. of Pathol. and Bact. 1908. Vol. XII. p. 426.

47 Siebert, W., Lagerung der Frambösiespirochäten im Gewebe. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1907. H. 22. u. 1908. H. 9. Ferner: 1. Tagung der Deutschen tropenmed. Ges. Hamburg. April 1908.

48 Strong, R. T., Specific cure of Yaws with Dioxydiamidoarsenobenzol. Demonstr. Manila Med. Soc. 5. IX. 1910 (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 8). Ferner: Phil. Journ. of Science. 1910. Ser. B. Vol. V. H. 4 und Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1911. H. 6.

49 Terra, F., Da bouba.. Brazil medico. 1909.

50 Wellman, F. C., On a spirochaeta found in Yaws papules. Journ. of trop. Med. 1905. No. 23.

51 Derselbe, On the morphology of the spirochaetae found in Yaws papules. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1907. H. 17.

Die Gregarinen.

Von

C. Schellack.

Die Ordnung der Gregarinen ist die einzige unter den Sporozoen, die keine für ihre Wirte pathogenen Formen aufweist. Die wenigen Ausnahmen, die bekannt geworden sind (Seite 511), können zum Teil einfach auf abnorm starke Infektionen zurückgeführt werden, zum Teil sind sie nicht genügend bestätigt — die „Gregarinosen" einer früheren Zeit (Gregarinen als Erreger der Hühnerpocken, Vaccine, Variola usw.) sind nur noch als Kuriosa bemerkenswert. Die einzelne befallene Zelle zeigt allerdings bei verschiedenen Arten verschiedene recht interessante pathologische Veränderungen, die aber in der Regel auf das Allgemeinbefinden des Wirtes keinen Einfluß auszuüben scheinen. Wenn es trotzdem unternommen wird, in diesem Handbuch der „pathogenen" Protozoen auch einen kurzen Überblick über die Gregarinen zu geben, so ist klar, daß das ihrer Bedeutung entsprechend nur in gedrängter und wenig eingehender Form geschehen kann. Freilich ist darauf hinzuweisen, daß die Kenntnis ihrer Morphologie und Entwicklung bereits recht weit gediehen ist, und ihre verwandtschaftlichen Beziehungen zu rein pathogenen Formen (Coccidien) so nahe sind, daß es als eine Lücke in der Folge der vorliegenden Aufsätze empfunden werden müßte, wollte man sie ganz übergehen. Beachtenswert für den Parasitologen ist schließlich auch ihre außerordentliche Verbreitung über fast alle Klassen der Metazoen, ihr Artenreichtum und die Mannigfaltigkeit ihrer Formverhältnisse.

Die folgenden Ausführungen beschränken sich darauf, eine gedrängte monographische Darstellung von einigen typischen Vertretern der Hauptgruppen zu geben, indem dabei, soweit wie angängig, Vergleiche mit anderen Formen eingeflochten werden, außerdem eine Übersicht über das System, Zusammenstellung der wenigen Angaben über die pathogenen Arten und einige Angaben über die Technik der Untersuchung. In den Abschnitt über *Gregarina ovata* sind eigene, bisher nicht veröffentlichte Untersuchungen eingefügt.

Die Eugregarinen.

I. *Gregarina (= Clepsidrina).*[1]

1. Die erwachsenen vegetativen Formen.

Die Gattung *Gregarina (= Clepsidrina)* kann gewissermaßen als Typus für die ganze Ordnung der Gregarinen, der sie auch den Namen gegeben hat, dienen. Sie

[1]) Soweit wie möglich wird der Darstellung *Gregarina ovata* L. Dufour zugrunde gelegt werden. Es wird aber öfter auf andere Arten der Gattung verwiesen werden müssen, da bisher von keiner eine vollständige Beschreibung vorhanden ist.

kommt in zahlreichen Arten im Darm von Hexapoden vor: die bekanntesten im Darm der Küchenschabe *(Gr. blattarum)*, des Mehlwurms *(Gr. polymorpha, Gr. cuneata)*, des Ohrwurms *(Gr. ovata)*, andere in Heuschrecken, Käfern, Dipterenlarven, Thysanuren usw., durchweg aber in solchen Wirten, die sich von Vegetabilien nähren — alle meist in großen Scharen das Darmlumen mit den umfangreichen, ovalen, milchweißen (selten orangefarbenen) Körpern der erwachsenen vegetativen Formen erfüllend.

Der Körper der erwachsenen Gregarinen ist einzellig, aber dreifach gekammert: hinten der große den bläschenförmigen Kern in sich tragende Deutomerit (Taf. XIIb), in der Mitte der Protomerit, vorn der kleine meist knopfförmige Epimerit, der den in das Darmlumen hineinragenden Organismus an der Darmwand verankert, außerdem aber wahrscheinlich auch zur Nahrungsaufnahme dient.

Z. B. soll der Epimerit von *Pyxinia* nach Léger und Duboscq durch die Epithelzellen hindurch bis in die Blutlacunen der Submucosa reichen; ähnliche Angaben werden für *Nina gracilis* gemacht (Léger u. Duboscq). Dieselben Autoren beschreiben z. B. bei *Stylorhynchus* einen wahrscheinlich zur Nahrungsbeförderung dienenden Kanal, der vom Grunde des Epimerits durch den Protomerit bis in den Deutomerit reicht.

Über eine andere Form des Epimerits bei einer anderen Gattung vergleiche man z. B. die Abb. Taf. XIIId. Er ist kein konstantes Gebilde, sondern wird durch Abstoßen oder Zurückbilden (*Gr. ovata* Pähler 1904) verloren (bei manchen Formen ist er regenerationsfähig: z. B. *Pyxinia*), und die Gregarine fällt dann in das Darmlumen hinein, in dem sie sich durch eine höchst eigentümliche gegen die Bewegung des Darminhalts gerichtete Gleitbewegung lange Zeit erhält. Von dem recht komplizierten Bau der Körperwand mit dem längsgerippten Epicyt (= Cuticula Fig. 1B), Gallertschicht, Ektoplasma, Sarkocyt (mit den Myonemen) gibt Fig. 1A eine Anschauung. Es muß aber hinzugefügt werden, daß diese Schewiakoff'sche Darstellung des Körperbaues ebenso anfechtbar scheint, als die bekannte von ihm aufgestellte Theorie zur Erklärung der fortschreitenden Gleitbewegung (durch in den Cuticularrippen austretende im Moment des Austretens erstarrende Gallertfäden) bereits in Zweifel gezogen bzw. durch eine neue ersetzt ist (vgl. Crawley 1902, Lühe 1904, Hall 1907; ferner über die abweichende Darstellung der Körperwand von *Doliocystis* Brasil 1909; auch Hesse 1910 macht z. B. für den Bau von *Monocystis lumbrici* abweichende Angaben.)

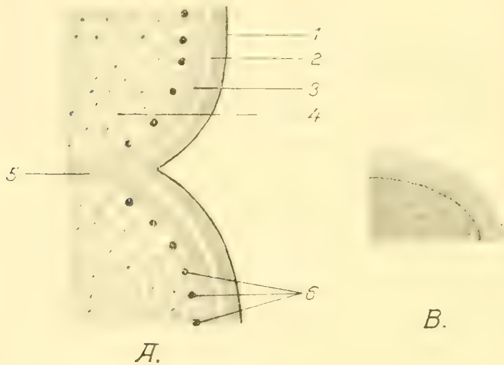


Fig. 1. *A.* (Nach Schewiakoff). *Gregarina munieri* Schn. Teil eines Längsschnittes durch Protomerit und Deutomerit. 1. Rippen der Cuticula. 2. Gallertschicht, durch die Furchen nach außen offen. 3. Ektoplasma. 4. Endoplasma. 5. Ektoplasmatische Scheidenwand zwischen Proto- und Deutomerit. 6. Myonemfibrillen.
B. (Original). Querschnitt durch eine *Gregarina* aus dem Darm der Larve einer *Tipula* spec.

Neben der fortschreitenden gleitenden Bewegung aller Gregarinen machen sich fast immer auch plötzliche Knickungen des Körpers bemerkbar. Der milchweiß erscheinende Körperinhalt besteht zum größten Teil aus Reservestoffen (Zooamylum Bütschli 1885), die nicht selten im Protomerit fehlen; außerdem können kleinere, durch Kalilauge nicht zerstörbare Körner unbekannter Natur (Bütschli 1882), seltener Fettkugeln, Eiweißkristalle usw. auftreten.

Über etwa auftretende Chromidien ist m. E. Klarheit noch nicht erzielt (Arbeiten z. B. von DRZEWECKI 1907, MOROFF 1908, LÉGER 1904 [„corps chromatoïdes", nicht Chromidien bei *Stylorhynchus*], COMES 1907); ich möchte nur auf das bisher nicht beachtete Vorhandensein von Volutin hinweisen (man vergleiche das Photogramm Fig. 2 von einer Gregarine aus dem Mehlwurmdarm, deren Protomerit mit Volutin erfüllt ist).



Fig. 2. Eine Gregarine aus dem Darm eines Mehlwurms. (Orig.) Delafields Hämatox. Protomerit mit Volutin erfüllt, im Deutomerit nur wenige Körnchen.

Man nimmt an, daß die Ernährung osmotisch durch die gesamte Körperoberfläche hindurch geschieht.

Das Bild des Kernes ist während der vegetativen Periode der Gregarinen ganz beherrscht durch die Tätigkeit der riesigen Karyosome, die als kuglige (bei anderen Gattungen oft wurstförmige) Gebilde immer in der Einzahl vorhanden sind, aber oft kleinere sekundäre Karyosome abschnüren (sehr auffällig bei *Gr. blattarum*) und vielleicht den Bildungsherd der meisten im Kerne vorhandenen chromatisch färbbaren Substanz abgeben. Über eine Theorie zur Tätigkeit der Karyosome und ihren komplizierten Bau siehe LÉGER und DUBOSCQ (1908) bei *Aggregata*.

Für die Gattungen der Gregarinidae ist eine eigentümliche Verkettung der im Darmlumen schwimmenden Individuen durch Verklebung der entgegengesetzten Körperenden höchst charakteristisch (Taf. XIIc); in der Regel sind auf diese Weise zwei Tiere vereint, bei manchen Arten aber ganze Ketten von Tieren, die sogar verzweigt sein können. Bei zwei Tieren pflegt man das vordere „Primit", das hintere „Satellit" zu nennen.

2. Die Entwicklung in der Cyste.

Diese Verkettung, die schon bei sehr jungen Tieren erfolgt, ist zugleich die erste Andeutung einer geschlechtlichen Differenzierung der Einzeltiere, (die sich sonst — wenigstens bei *Gr. ovata* — morphologisch nicht voneinander unterscheiden): denn die beiden so vereinten Tiere schreiten nach Vollendung ihres Wachstums auch zu gemeinsamer Encystierung zum Zwecke der geschlechtlichen Fortpflanzung. Es erfolgt noch im Darmlumen eine Verkürzung der Längsachsen der beiden Tiere, sodann unter andauernden langsam gleitenden Rotationsbewegungen die Ausscheidung einer doppelten konzentrisch gestreiften Hülle: einer äußeren weichen, gallertigen und einer inneren sehr zähen, elastischen und äußerst undurchlässigen. Die fertige Cyste ist fast kugelig, die beiden Tiere liegen dicht aneinander (Taf. XIId), ohne zu verschmelzen. Sie schreiten zur Kernvermehrung erst, wenn sie mit dem Kot den Darm verlassen haben. Eine geschlechtliche Differenzierung der beiden Einzeltiere in der Cyste tritt nach LÉGER und DUBOSCQ (1909) bei *Gregarina polymorpha* darin zutage, daß das eine Tier stärker färbbares Plasma besitzt als das andere. Bei meinen mit HERMANN'scher Lösung konservierten Totalpräparaten von Cysten der *Gr. ovata* ist diese Differenz nur selten, aber dann ziemlich deutlich erkennbar.

Die erste Kernteilung innerhalb der Cyste geht in höchst eigenartiger Weise vor sich; wir besitzen freilich wie für alle untersuchten Arten auch für die der Gattung *Gregarina* nur wenige Stadien dieser technisch sehr schwer darstellbaren Kernvermehrungen. Es scheint aber, daß für alle Eugregarinen der eine Grundzug der gleiche ist, daß

der riesige vom vegetativen Leben der Gregarine herstammende Kern in zwei Komponenten zerlegt wird, eine generative und eine vegetative: der vegetative Hauptteil des Kernes wird im Plasma verteilt, und eine winzig kleine Menge bildet sich zu einer Spindel heraus, die nach vollendeter Durchteilung die ersten beiden Kerne jeder Cystenhälfte liefert. Für die Gattung *Gregarina* hat Schnitzler (1905) bei *Gr. ovata* die einzigen Figuren geliefert (Fig. 4): eine winzige kleine Spindel findet sich innerhalb der Kernmembran und tritt später unter Platzen derselben ins Plasma. Der Vergleich mit Makro- und Mikronucleus der Infusorien liegt natürlich nahe.

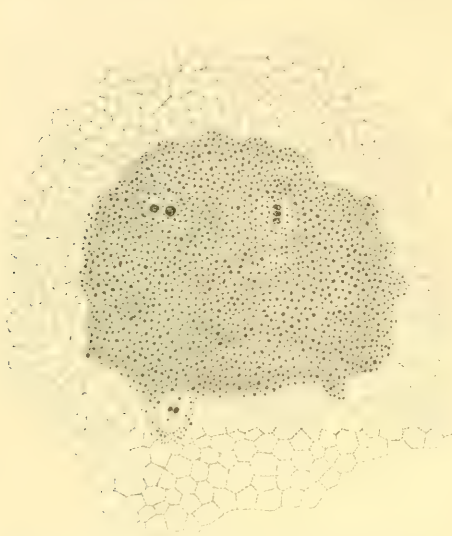


Fig. 3. Erste Kernteilung in der Cyste von *Gregarina ovata*. (Nach Schnitzler 1905.) Sehr kleine Spindel aus dem Kern heraustretend.

Die ersten Angaben über diese merkwürdigen Kernteilungen stammen von Siedlecki (1899, *Monocystis ascidiae*), Mrázek (1859, Gregarine aus *Rhynchelmis*), Cuénot (1901, *Monocystis* und *Diplocystis*). Man vgl. auch die Darstellung der folgenden Arten.

Die folgenden Kernteilungen verlaufen in gleicher Weise in beiden Tieren der Cyste mitotisch. Die Mitose ist wie bei vielen Gregarinen dadurch gekennzeichnet, daß die Kernmembran sehr lange bestehen bleibt. Die Chromosomen sind deutlich (Fig. 4a—d); sie sind in den Polplatten bei *Gr. ovata* zu dreien vorhanden (nicht vier, wie Schnitzler meint). Diese Abweichungen von der Regel der paarigen Chromosomenzahl ist bei den Gregarinen nicht selten — eine genauere Untersuchung wird sie vielleicht noch allgemeiner nachweisen [vgl. *Echinomera hispida, Nina gracilis, Monocystis* (?)]. Für die Gattung *Gregarina* hat sie zuerst Léger (1909) bei *Gr. munieri* festgestellt: man nennt das unpaare Chromosom, das sich durch größere Länge auszeichnet, nach dem Vorgange von Léger und Duboscq das „axiale Chromosom" (über seine Bedeutung siehe S. 497). Ich muß bemerken, daß bei *Gr. ovata* das axiale Chromosom nur wenig länger als die andern ist. Das „Centrosom" scheint mir auch bei *Gr. ovata* ähnlich gebaut zu sein wie es Brasil (1905) bei *Gonospora* und *Urospora*, Léger und Duboscq (1903, 1909) bei *Nina*, Schellack (1907) bei *Echinomera* (siehe S. 497) dargestellt haben, es tritt aber auch bei den größeren Kernen nicht so deutlich hervor. Auffällig ist, daß in den ruhenden Kernen von *Gr. ovata* ein Karyosom nicht mit Sicherheit zu erkennen ist.

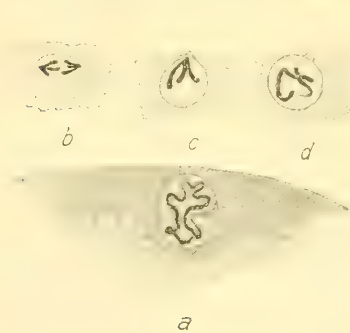


Fig. 4. *Gregarina ovata*. Original. Kernbilder aus der Cyste. *b, c, d.* Zeiß Comp.-Oc. 8. Imm. 2 mm. Färb. Delafields Hämatox. Konserv. mit Bouins Gemisch. *a.* Zeiß Comp.-Oc. 6. Imm. 2 mm. Färb. Eisenhämatox. Konserv. mit Herm. Gemisch.

Die weitere Kernvermehrung geht zunächst über den ganzen Körper des Einzel-

tieres verteilt vor sich (Taf. XIIe), dann sammeln sich die Kerne an der Peripherie in einer schmalen Zone klaren hyalinen Plasmas (Taf. XIIf), um sich hier zu einer großen Zahl immer kleiner werdender Kerne zu vermehren. Das Plasma des Cysten-Inneren ist mit Paraglykogen-Körnchen und Volutin dicht beladen. Schließlich wölben die kleinen Kerne mit dem Centrosom voran sich über die Oberfläche der hyalinen Plasmaschicht (die stellenweise schwache Lappungen zeigt) hervor und bilden auf beiden Tieren eine Unzahl kleiner zugespitzter hyaliner Cylinder (Taf. XII g). Die letzteren lösen sich bald ab, und wir haben die jüngsten Stadien der freien Gameten vor uns, die bei Männchen und Weibchen ziemlich gleich, so wie Fig. 6 zeigt, gebaut sind. Léger und Duboscq (1909) geben für die von ihnen untersuchten Arten an, daß die weiblichen Gameten etwas gedrungener sind, und die männlichen ein Geißelrudiment besitzen. Unter der manchmal sehr langen Plasmaspitze (Fig. 5, 6), dem Rostrum Léger's, liegt das nicht mehr deutlich erkennenbare Centrosom, dicht darunter an der Kernmembran stark färbbares, von oben gesehen deutlich kappenförmiges Chromatin, im Kernraum selbst wenig sehr schwach färbbares Chromatin, das oft fadenförmig angeordnet scheint. Sichere Karyosome waren bei *Greg. ovata* nicht zu erkennen.

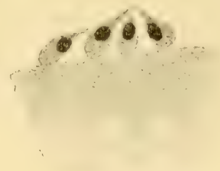


Fig. 5. *Gregarina ovata.* (Original.) Sich ablösende Gameten — an beiden Muttertieren ziemlich gleich. (Oc. 6. Imm. 2 mm. Eisenhämatox. überfärbt. Hermanns Gemisch.)



Fig. 6. Entwicklung der Gameten von *Gregarina ovata* (*a*—*c*), Copulation (*d*—*e*), Stadien der einkernigen Sporocyste (*f*—*i*). *a* Gameten kurz nach der Ablösung. *b* Etwas spätere Stadien (beide aus einer Cyste). *c* Reife Gameten (beide Formen aus einer Cyste). *d*—*e* Copulation der Gameten. *f* Spindelbildung nach der Befruchtung. *g* Kern nach Rückbildung der Spindel (E. H. Färbung). *h*, *i* Spätere Stadien — *i* von oben gesehen. (Alle Figuren mit Bouins Gemisch fixiert, mit Delafields Hämatoxylin gefärbt; C.-Oc. 12, Imm. 2 mm.) Orig.

Bald nach der Ablösung, die übrigens nach Léger und Duboscq (1909) bei den von ihnen untersuchten *Gregarina*-Arten nicht gleichzeitig, sondern beim männlichen eher als beim weiblichen erfolgt, erfahren die Gameten beider Muttertiere unter gleichzeitigen bedeutsamen Kernveränderungen eine Veränderung der Gestalt: der spindelförmige Körper wird gedrungener, beim weiblichen Gameten schließlich ganz kugelförmig, das männliche bleibt etwas mehr gestreckt, so daß man von einer Anisogamie reden muß. Bei den von Léger und Duboscq (1909) untersuchten Arten *(Gregarina munieri, blattarum, acridiorum* und *polymorpha)* ist die Verschiedenheit der Gameten dem Anschein nach größer (Fig. 7) als bei *Greg. ovata,* bei der Schnitzler noch Isogamie annahm. Jedenfalls fand auch ich häufig alle reifen Gameten einer Cyste fast kugelförmig — wobei man allerdings berücksichtigen muß, daß ungünstige äußere Einwirkungen sehr leicht eine Abkugelung auch früherer Stadien herbeiführen. Die Kernveränderungen beginnen in der Weise, daß das kappenförmige Chromatin in das Kern-Innere hineinrückt, sich noch stärker zusammenballt und sich zu den Reduktions-Teilungen vorbereitet. Sie sind für *Greg. ovata* zuerst von Pähler (1904) und Schnitzler (1905), sodann von Léger und Duboscq (1909) für die oben erwähnten Arten der Gattung nachgewiesen worden. Schnitzler fand typische Mitosen, deren eine Tochterplatte aus dem Gameten ausgestoßen wird; Léger und Duboscq konnten wegen der Kleinheit des Objekts die Phasen der mitotischen Teilung nicht so deutlich erkennen, machten aber wahrscheinlich, daß noch eine zweite Reduktionsteilung stattfindet, sodaß das Endbild (Fig. 8) dem eines Metazoeneies nach den Reifungsteilungen ähnelt. Die Reduktion soll aber in gleicher Weise bei männlichen und weiblichen Gameten stattfinden. Leider fehlt bis jetzt der Nachweis der Verringerung der Chromosomenzahl auf die Hälfte, der eigentlich überhaupt die Vorbedingung für die Anwendung der Bezeichnung „Reduktionsteilung“ sein sollte.

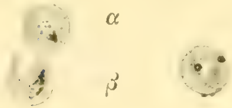


Fig. 7. Fig. 8.

Fig. 7. Nach Léger und Duboscq (1909). Gameten von *Gregarina munieri.* α weibliche, β männliche Gameten.

Fig. 8. Nach Léger und Duboscq (1909). Weibliche Gameten von *Gregarina munieri* mit drei Reduktionskörpern.

Ich habe mich vielfach bemüht, bei den großen Elementen der *Greg. ovata* diese wichtigen Vorgänge wiederzufinden, bin aber bis jetzt nicht zum Ziele gelangt, trotz vieler ausgezeichnet konservierter Stadien von der Ablösung der Gameten bis zur Kopulation und trotz einer scheinbar ununterbrochenen Serie von Kernbildern zwischen beiden Prozessen — die Stadien sind groß genug, um eine Mitose deutlich erkennen zu können. Zerschnürungen des Binnenchromatins des Kernes wie Léger und Duboscq habe ich auch wohl gesehen, aber nie die Ausstoßung oder auch nur mit Sicherheit das Vorhandensein der kleinen Reduktionskörper (die aber leicht abgefallen sein könnten?).

Nach den Reifungsteilungen nimmt das Chromatin des Kerns eine typisch spindelförmige Gestalt an, der Kern selbst ist langgestreckt (Fig. 7). Dann verschmelzen die Gameten (Taf. XII m). Das Synkaryon ist ebenfalls spindelförmig (Fig. 6f), die Kernmembran selbst aber bleibt erhalten; die Spindel verlängert sich sogar nachträglich noch bedeutend, so daß ein Bild zustande kommt, das einigermaßen an die Befruchtungsspindel von Coccidien (Adelea, Orcheobius) erinnert. Die Analogie geht noch weiter, indem die Spindel wieder zu einem typischen polständigen Kern reduziert wird (Fig. 6g—i).

Das Chromatin kondensiert sich und rückt dann nach einem Synapsis-Stadium wieder in drei Partien (Fig. 6i) auseinander, die merkwürdigerweise ebenfalls wieder dreiteilig sind.

Die männlichen und weiblichen Gameten werden nicht sowohl durch die schwache Eigenbeweglichkeit der männlichen Gameten zusammengeführt, als vielmehr durch

einen höchst eigenartigen schon von BERNDT (1902) beobachteten Bewegungsvorgang des nunmehr verschmolzenen Plasmarestes des männlichen und weiblichen Muttertieres (Taf. XIIh): es werden pseudopodienartige Ausläufer gebildet, die wellenartig vorwärts und wieder rückwärts das „copularium" (d. h. den von den Gameten erfüllten Raum) durchlaufen und die Gameten vermischen.

Die merkwürdige Lebenstätigkeit des „Restkörpers", die auf die eben beschriebene Weise beginnt (vielleicht geleitet von den sogenannten „somatischen Kernen" LÉGER's und DUBOSCQ's), erlischt auch weiterhin nicht: nach der Copulation umgeben sich die noch einkernigen Sporocysten mit einer feinen Hülle und werden vom Restkörper, wie ich glauben möchte, aufgenommen (wandern nicht hinein), um schließlich sämtlich in einem kugelförmigen neu gebildeten Hohlraum in der Mitte gesammelt zu werden. Sodann erledigt der Restkörper, der jetzt die Gestalt einer Kugelschale hat, noch die Bildung der komplizierten „Sporodukte" (Taf. XIIk), h. d. der Organelle, durch die die reifen Sporen ausgeschleudert werden. Diese „Röhren" sind zunächst handschuhfingerartig eingestülpt, werden dann nach ganz vollendeter Ausbildung nach außen vorgeschleudert und entlassen die Sporocysten, die in langen Ketten aneinanderhängen.

Da man beobachtet, daß während der Ausschleuderung der Sporen die Cystenhülle zusammenschnurrt, dicker und konzentrisch gestreift wird und schließlich ihre vorherige Elastizität ganz verloren hat, kann man annehmen, daß die zusammenpressende Kraft der Cystenhülle es ist, die die Sporocysten ausschleudert. Vielleicht kommen Quellungserscheinungen des Restkörpers dazu.

Über die Reifung der Sporocysten ist noch nachzutragen, daß der endständige Kern sich mitotisch in zwei, vier, acht Kerne teilt (Dreizahl der Chromosomen auch hier! Taf. XIIo), und daß schließlich 8 Sporozoiten gebildet werden (Taf. XIIp). Die Hülle ist doppelt, da auf dem vierkernigen Stadium noch eine zweite Hülle ausgebildet wird, die „Endospore" (äußere Hülle = „Exospore").

3. Die Infektion neuer Wirtstiere.

Die Sporocysten vermitteln die Infektion neuer Tiere, indem sie von ihnen mit der Nahrung aufgenommen werden. Unter der Einwirkung des Darmsaftes platzt die Exospore in zwei Schalen auseinander und die Sporozoite verlassen unter gleitenden, ruckweise knickenden Bewegungen die Endospore, um sich dann eine günstige Stelle auf dem Darmepithel zur Weiterentwicklung auszusuchen.

Diese Entwicklung ist für *Gregarina ovata* von PÄHLER (1904) untersucht worden, bedarf aber wohl der Nachprüfung, da sie von der aller echten Polycystideen, insbesondere auch von der der anderen Arten der Gattung abweicht. PÄHLER fand intracelluläre Stadien, die sonst nie zu finden sind. Die Fig. 9 erläutert, wie bei *Greg. cuneata* nach LÉGER und DUBOSCQ, die Ausbildung der verschiedenen Körperabschnitte der reifen Gregarine vor sich geht. Bemerkenswert sind dabei die gleichlaufenden Wanderungen des Kerns. Zu erwähnen ist noch, daß in letzterem das Karyosom mit Beginn des Aufenthalts des Sporozoiten im Darm neugebildet wird (alle Gregarinen und Coccidien haben, soweit bis jetzt festgestellt, in den ruhenden Sporozoiten noch kein Karyosom). Die Zeit, die die Gregarinen gebrauchen, bis sie wieder zur geschlechtlichen Fortpflanzung schreiten, ist nicht genau festgestellt; es handelt sich jedenfalls um Monate. Die Reifung der Cysten dagegen ist in etwa vier Tagen erledigt. Daß bei der

[1]) Das Ausschlüpfen der Sporozoiten erfolgt nicht nur unter der Einwirkung der Darmsäfte des spezifischen Wirtes; so konnte ich z. B. beobachten, daß die Sporen einer *Gregarina* aus *Adimonia tanaceti* unter der Einwirkung von Mehlwurmdarmsaft die Sporozoiten entließen (entsprechendes wurde außer bei Gregarinen anderer Gattungen z. B. auch für *Coccidium oviforme* von METZNER festgestellt).

Gattung *Gregarina* wie überhaupt bei sämtlichen untersuchten Polycystideen der Sporozoit ohne eine eingeschaltete Schizogonie zu der geschlechtsreifen Form heranwächst, darf heute (trotz auch kürzlich wieder aufgestellter gegenteiliger Behauptungen für die Mehlwurmgregarinen) als völlig sichergestellt gelten.

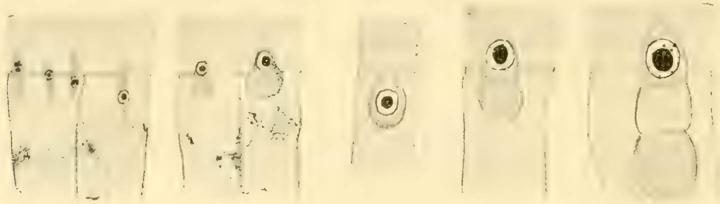


Fig. 9. Entwicklung von *Gregarina cuneata* F. St. im Mehlwurmdarm vom Sporozoiten bis zur Ausbildung von Epimerit, Protomerit und Deutomerit. Nach Léger und Duboscq (1904).

Bemerkt werden muß noch, daß nach mehrfachen Angaben (A. Schneider, Schnitzler, Léger u. Duboscq) *Gregarina*-Arten sich auch einzeln encystieren können. Man hat das als eine Ausnahme anzusehen, und es ist wahrscheinlich, daß diese Cysten entweder frühzeitig absterben oder wenigstens keine entwicklungsfähigen Produkte liefern.

Die Bedeutung der Entwicklung verschiedener Kategorien von Sporocysten (Makrosporen und Mikrosporen) ist noch nicht aufgeklärt.

II. *Echinomera hispida* (A. Schn.).

Die Gattung *Gregarina* besitzt nach Léger und Duboscq (1909) eine stark „zurückgebildete" Anisogamie. Hauptsächlich als ein Beispiel für die am höchsten ausgebildete Anisogamie bei den Eugregarinen überhaupt soll im folgenden kurz die Entwicklung von *Echinomera hispida* A. Schn. aus dem Darme unseres gewöhnlichen Tausendfußes *(Lithobius forficatus)* nach Untersuchungen von Schellack (1907) dargestellt werden.

Die Entwicklung dieser Art stimmt in allem wesentlichen mit der von *Nina gracilis* aus dem Skolopenderdarm überein; wir verdanken Léger u. Duboscq eine ausgezeichnete Bearbeitung (1902 kurze Mitteilung, 1909 ausführliche Darstellung) dieser Form, vor allem genaue Untersuchungen über die Geschlechtsdifferenzen und die Kernteilung.

1. Die erwachsenen vegetativen Formen.

E. hispida gehört zu den Dactylophoriden (s. S. 511), d. h. die erwachsene Form der Darmgregarine ist durch ein fingerförmiges Epimerit ausgezeichnet (Taf. XIIId). Die Entwicklung dieser Form aus dem Sporozoiten erfolgt in der Weise (Taf. XIIIc—e), daß dieser sich mit seinem „Rostrum" in den Stäbchensaum und den oberen Teil des Plasmas einer Darmzelle einbohrt, dann eine Verkürzung und Verdickung des ganzen Körpers und eine Abplattung an der der Darmzelle aufsitzenden Basis eintritt, und aus dieser letzteren dann die fingerförmigen Auswüchse in die Zelle hineinsprossen.

Man muß diese Epimerit-Form der Dactylophoriden als „sekundär" bezeichnen — vgl. dazu die Darstellung Lühes 1904.

Darauf erst erfolgt die Ausbildung der plasmatischen Scheidewand zwischen Protomerit und Deutomerit.

Die Epimerit-Fortsätze sind bei *Nina gracilis* lang haarförmig und reichen bis an den Grund der Darmzellen. Léger u. Duboscq vermuten, daß sie Nahrungssäfte direkt aus dem Blut

des Wirtes entnehmen können (Fig. 10 stellt eine riesenhafte Infektion eines Skolopenders mit *Nina* dar).

Das Protomerit von *Echinomera* ist ausgezeichnet durch eine starke Anhäufung von Volutinkörnern und wolkige chromatoide Körper, deren Zusammenballungen stellenweise dem sogenannten „Protomerit-Kern" von *Nina gracilis* und anderen

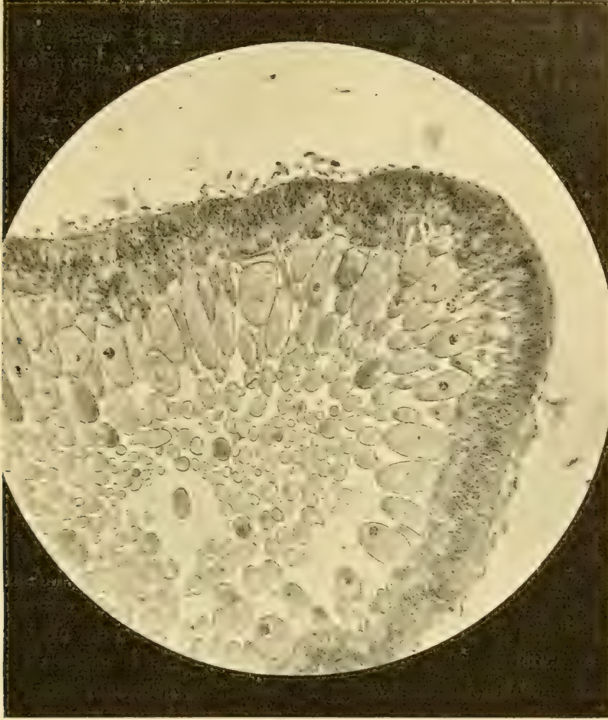


Fig. 10. Querschnitt durch einen Darm von *Scolopendra*. Starke Infektion mit *Nina gracilis*. Orig.

Gregarinen (*Gregarina socialis*, Léger 1906, *Pileocephalus striatus* 1909, *Frenzelina?*, *Stenophora?*) ähneln. Besonders bei *Nina* ist dieses merkwürdige Gebilde einem zweiten Kerne äußert ähnlich, verschwindet aber während der Encystierung.

Seine „Kern-Natur" ist noch problematisch. Erklärungen rein hypothetischer Art sind gegeben von Léger u. Duboscq (1909), Dogiel (1908).

2. Die Entwicklung in der Cyste.

Vor der Encystierung fallen die Gregarinen wieder wie bei *Gregarina* frei ins Darmlumen, vereinigen sich aber nicht wie diese zu Ketten von zwei oder mehr Tieren, sondern leben einzeln. Erst kurz vor der Encystierung legen sie sich mit den vorderen Protomeritflächen aneinander, kugeln sich ab und umgeben sich mit der Cystenmembran (Taf. XIIIe). Die weitere Entwicklung ist nun bei den beiden Tieren der Cyste typisch verschieden: man kann von Anfang der Encystierung an von Männchen und Weibchen sprechen. Einmal ist die Größe der Waben (oder der eingeschlossenen Paramylon-Körner) und vielleicht im Zusammenhang damit die Färbbarkeit des Plasmas

des Männchens größer als das des Weibchens, sodann ist eine äußerliche Verschiedenheit der Form vorhanden, indem das Weibchen birnförmig in das allmählich kappenförmig werdende Männchen hineinwächst. Außerdem verläuft die Aufteilung von Kernen und Plasma zu Gameten bei den einzelnen Tieren verschiedenartig. Nach eingetretener Kernvermehrung verteilen sich zunächst die Kerne gleichmäßig im Plasma beider Tiere, rücken dann — ebenfalls bei beiden Tieren — an die Peripherie, bleiben dort aber nur beim Männchen (Taf. XIIIh). Beim Weibchen ziehen sie in langen Zügen ins Innere zurück, begleitet (oder geführt) von einem dichteren klaren Plasma (Taf. XIIIh), verteilen sich dort nach bestimmten Regeln, und so zerfällt schließlich das gesamte Plasma in die kleinen zylinderförmigen Makrogameten (Taf. XIIIi). Die Kerne an der Oberfläche des Männchens bilden sich gleichzeitig nach starker Vermehrung zu den winzigen flagellaten-ähnlichen, mit kaum erkennbaren Mengen von Plasma versehenen Mikrogameten um (Taf. XIII l). Sie verteilen sich unter die Makrogameten und verschmelzen mit ihnen, indem sie, wie es scheint, meistens an dem mit dem Kern versehenen Pol derselben eindringen, seltener an beliebigen Stellen ins Plasma. Von einer vorhergehenden Reduktion der Kerne ist nichts zu sehen, jedenfalls nicht an den freien Gameten, wie das bei *Gregarina* der Fall sein soll. Dagegen ist schon vor den Mulsow'schen Ergebnissen bei *Monocystis rostrata* (s. Seite 500) von Léger und Duboscq für *Nina* die Vermutung (allerdings infolge der Kleinheit der Verhältnisse noch in keiner Weise bewiesen) ausgesprochen, daß diese Reduktionsteilungen während der lezten Mitosen vor sich gehen.

Léger u. Duboscq haben bei *Nina gracilis* außer den oben für *Echinomera* angeführten noch einige weitere Differenzen zwischen Männchen und Weibchen während der Cystenperiode gefunden (vor allem die sog. „plage mucoïde“ = einer Lage von stäbchenförmig verteilter Schleimsubstanz in der Protomeritgegend des Männchens), auf die ich hier nicht eingehen kann. Differenzen geschlechtlicher Art an den freien Gregarinen sind bisher noch bei keiner Art bekannt geworden, wenn man die verschiedene Lagerung der Einzeltiere der Ketten bei *Gregarina* („Primit“ und „Satellit“ = Männchen und Weibchen oder umgekehrt?) nicht als solche ansehen muß. Bei manchen Ketten sind übrigens Primit und Satellit auch morphologisch stark different. Aber Léger u. Duboscq reden von „Sexualisierung“ der freien nicht kettenbildenden Darm-Gregarinen von *Nina* vor der Encystierung, die sich mehrfach morphologisch kundgibt. Überleitende Bilder zu den Cystentieren hin müßten hier auch bereits bei den freien Tieren erkennbare sexuelle Differenzen zu erkennen geben.

Die Kernteilungen verlaufen bei den Dactylophoriden in sehr klarer und gut untersuchter Weise. Von den schwer zu untersuchenden ersten Teilungen sind bei *Echinomera* (Fig. 11a) und *Nina* mehrere Stadien bekannt, aus denen hervorgeht, daß das Chromatin der ersten Spindel sich bereits innerhalb des Mutterkerns zu einer Art Kleinkern anordnet, der bei *Nina* nach Platzen der Kernmembran deutlich kugelförmig als echter Kern im Plasma liegt. Dann erst bildet sich die mitotische Figur. Bei ihr tritt äußerst deutlich der sogenannte „centroconus“ (Léger und Duboscq 1909), der in Andeutungen schon bei *Gregarina* gesehen und erwähnt wurde, hervor (= appareil conique, cône d'attraction, Polkegel; Fig. 11b). Über seine Homologa ist eine sichere Entscheidung noch nicht getroffen — wahrscheinlich dürften Léger und Duboscq Recht haben, wenn sie die auf den Spitzen dieser Strahlungskegel in der Mitte der Strahlung auftretenden Körnchen oder Doppelkörnchen als Centriolen bezeichnen. Diese Kegel, zunächst in der Einzahl dem Kern aufsitzend (während der ganzen Kernvermehrung permanent vorhanden) verdoppeln sich, rücken auseinander und bilden zwischen sich eine mitotische Figur aus, die manchmal sehr lange von der in der Form unveränderten Kernmembran eingeschlossen ist. Die Zahl der Chromosomen der Tochterplatten ist wieder ungerade wie bei *Greg. ovata*, beträgt aber 5 (wie bei *Nina*), d. h. wir haben wieder ein typisches unpaares Chromosom (Fig. 11c), das hier deutlich länger

ist und sich später teilt als die übrigen Chromosomen (LÉGER und DUBOSCQ meinen, daß es neben dem Chromatin auch die Reste der während der Mitose tordierten Kernmembran in sich enthielte). Wichtig ist, daß es am Schluß der Kernteilung in dem Tochterkern die Grundlage für ein neues Karyosom (das alte wird während der Mitose ins Plasma ausgestoßen) abgiebt (SCHELLACK 1907). Später vereinigt es dann auch einen Teil des Chromatins der anderen Chromosomen in sich. Über die eigentliche Bedeutung dieses merkwürdigen Chromosoms bestehen nur Vermutungen. Daß es mit dem äußerlich ähnlichen „accessorischen Chromosom" der Metazoen nicht zu identifizieren ist, sagte schon SCHELLACK 1907 sowie LÉGER und DUBOSCQ 1909.

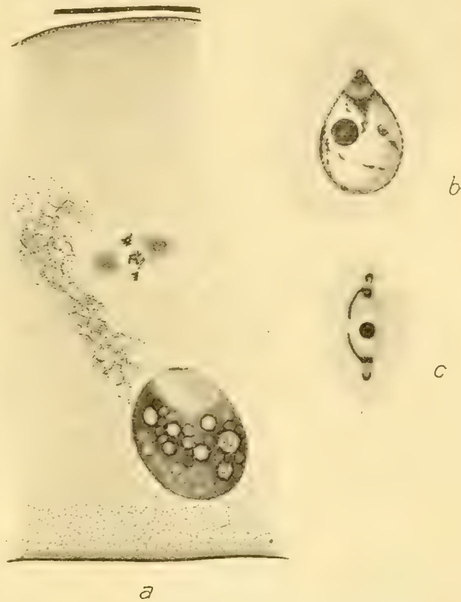


Fig. 11. *Echinomera hispida* (A. SCHN.) (nach SCHELLACK 1907). *a* Erste Kernteilung in der Cyste. *b* Kern mit „Centroconus". *c* Mitose mit dem längeren „unpaaren" Chromosom.

Die Entwicklung der Sporocysten verläuft in der typischen Weise. Merkwürdig aber ist die Art der Sporocysten-Ausschleuderung mittels der sogenannten „Pseudokyste latéral." Der Restkörper des männlichen Tieres (Taf. XIIIi) umgibt sich mit einer Hülle, die immer noch große Mengen von Mikrogameten einschließt; das Plasma hypertrophiert (?) oder verquillt (?) und bildet schließlich Gas, wie man an dem silbrigen Glanz des Inhalts der ganzen Cyste, die auf Wasser schwimmt, sehen kann. Die kompakte Sporocystenmasse nimmt den früheren Raum des Weibchens ein. Die Aufblähung des männlichen Restkörpers bewirkt ein Zerplatzen der Cystenhülle, und gleichzeitig wird der dem Restkörper in einer Delle mit seitlich versteiften Wänden aufsitzende birnförmige Sporocystenkörper (Taf. XIIIk) durch Vorschnellen der Delle aus ihr herausgeschleudert — bis auf Handlänge entfernt — und bleibt irgendwo kleben. Die geringste Berührung der klebrigen Sporocysten etwa mit den tastenden Fühlern eines Lithobius zieht sie zu langen Ketten auseinander. — In den sporodukttragenden Cysten, den Cysten mit der „pseudokyste latéral" und den durch einfaches Zerplatzen sich entleerenden Cysten z. B. der Monocystideen (siehe Seite 502) haben wir die Hauptarten der „Sporangien" (DOFLEIN) der Gregarinen kennen gelernt.

III. *Monocystis.*

Die Monocystideen bilden mit den Polycystideen zusammen die Unterordnung der Eugregarinen (s. S. 510), d. h. in ihrem Entwicklungsgang fehlt wie bei jenen eine Schizogonie. Sie unterscheiden sich von den Polycystideen dadurch, daß ihr Körper nicht septiert ist. Die Arten bevorzugen Würmer als Wirte (neben Ascidien, Seeigeln, Holothurien usw.), bei denen sie selten im Darm, sehr häufig im Cölom (frei in der Leibeshöhle, an den inneren oder äußeren Wänden der Blutgefäße, an den Tuben der Nephridien, in den Samenblasen usw., niemals im Hoden) je nach der Spezies vorkommen.

Die meist untersuchten Arten sind die aus den Samenblasen der Regenwürmer, in denen eine ganze Anzahl vorkommen, die bisher systematisch meist sehr schlecht auseinander gehalten wurden. Erst die ergebnisreiche Arbeit von E. Hesse (1909) wird dies in Zukunft ermöglichen, insofern in ihr eine genaue Scheidung der vegetativen Formen der verschiedenen Arten vorgenommen wurde. Die Cysten sind auch heute noch nicht bestimmbar, und so haftet vielen Arbeiten der Mangel an, daß man nicht

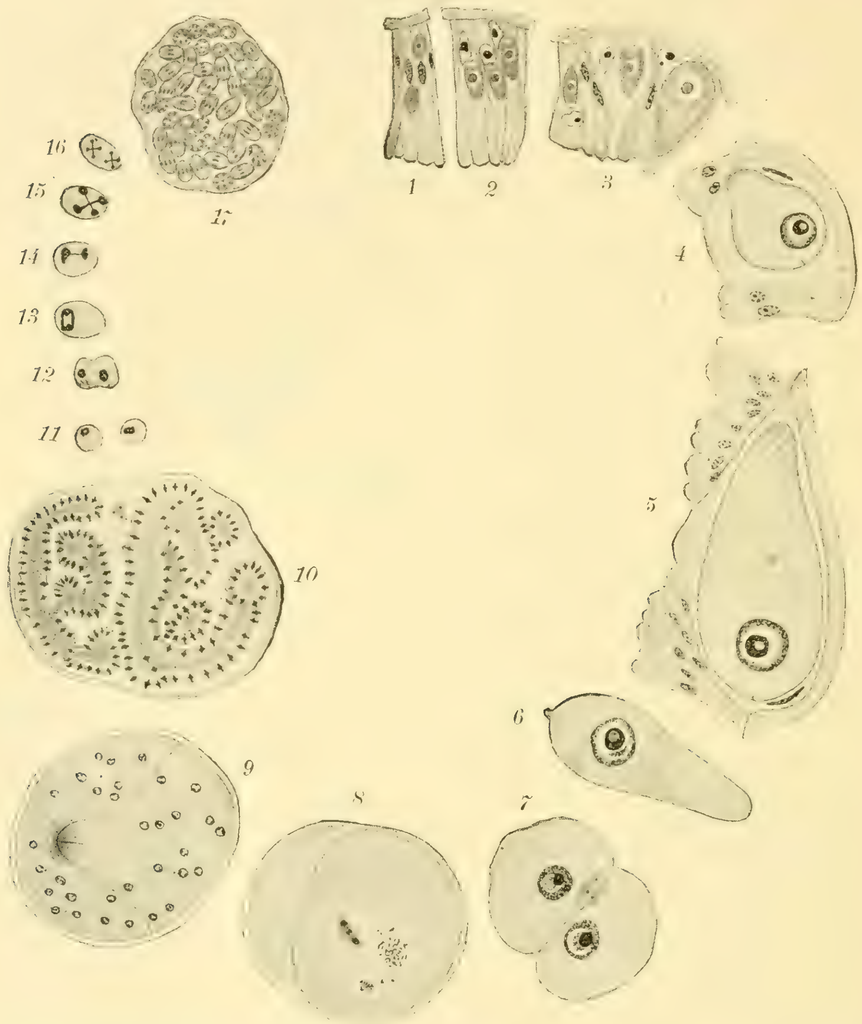


Fig. 12. Zeugungskreis von *Lankesteria ascidiae* (nach Untersuchungen Siedlecki's von Lühe zusammengestellt). *1—5* Intracelluläre Wachstumsperiode. *6* freie Darmgregarine. *7* Encystierung. *8—10* Kernteilungen zur Gametenbildung. *11—16* Copulation und Ausbildung der Sporocyste. *17* Cyste mit Sporocysten und reifen Sporozoïten.

sicher weiß, welche Art dargestellt wird oder ob überhaupt die Cysten von einer Art stammen. (Für *Lumbricus herculeus* hat Brasil einen ersten Versuch gemacht, die Cysten nach Arten zu scheiden; andere Arten, z. B. von die Mulsow 1911 untersuchte, sind nur nach Größe und Art des Vorkommens bestimmt.) Es ist deshalb noch nicht durchführbar, die gesamte Entwicklung einer Art geschlossen darzustellen — an-

nähernd ist das allerdings von Siedlecki (1899) für *Lankesteria ascidiae* R. Lank. erreicht, deren Entwicklungsgang in Fig. 12 dargestellt ist; in vielen Einzelheiten aber sind nach ihm andere Arten genauer untersucht, die deshalb herangezogen werden müssen.

Morphologie der erwachsenen vegetativen Formen.

Die meist länglich ovalen, oft auch fast kugelförmigen, oder lang geschlängelten Monocystideen besitzen kein Deuto-, Proto- und Epimerit, wie es die Polycystideen haben; dennoch sprechen wir auch bei ihnen von einem Epimerit besonderer Art (der allerdings auch vielen Arten fehlt). Es unterscheidet sich von dem starren Epimerit der Polycystideen durch die Veränderlichkeit der Form (es kann z. B. bei *Lankesteria* Fig. 12 rüsselartig vorgestreckt und wieder eingezogen werden) sowie dadurch, daß z. B. bei *Rhynchocystis pilosa* Hesse Sarcocyt- und Myocyt-Schicht in ihm vorhanden sind. Die „Apomerite" (Dogiel 1908) mancher Arten, die nicht wie die eigentlichen Epimerite am Vorderende, sondern am Hinterende des z. B. durch eine Gefäßwand hindurchgedrungenen Tieres entstehen, um es festzuheften, sind den Epimeriten analoge Gebilde. Die eigentlichen *Monocystis*-Arten besitzen nach Hesse (1909) keinen oder nur einen rudimentären Epimeriten — bei verwandten Gattungen ist er aber sehr mannigfaltig ausgebildet (Fig. 13) und wird neben Kernbau und Chromidien-



Fig. 13. Verschiedene Monocystideen. Nach E. Hesse (1909). *a Stomatophora coronata* Hesse. (Aus den Samenblasen von *Pheretima*.) *b Rhynchocystis pilosa* Cuénot. (Aus den Samenblasen von *Lumbr. terrestris*.) — Körper bedeckt mit Fäden, die aus Sarcocyt und Cuticula bestehen. *c Monocystis striata* Hesse. (Aus den Samenblasen von *Lumbricus terrestris*.) — Epicytstreifung.

bildung sowie der erstaunlich mannigfaltigen Ornamentierung der Cuticula, der Streifung des Sarcocyts und Myocyts systematisch verwertet. Am auffälligsten sind die Kleider von feinen Fädchen, mit denen der Körper mancher Arten ganz oder teilweise bedeckt ist (Fig. 13b): es sind das Auswüchse der Cuticula und des Sarcocyts, die wahrscheinlich den Zweck haben, die osmotisch ernährende Körperoberfläche zu vergrößern (vielleicht oder wahrscheinlich geht die Ernährung außerdem auch durch die Epimerite hindurch vor sich, wie es bei manchen Polycystideen vermutet wird). Der Kernbau ist nicht wesentlich abweichend von dem der Polycystideen, wie er unter I und II dargestellt ist; die Bewegungsorganelle sind auch gleichartig (freilich vermißt Hesse 1909 die Schewiakoff'sche Gallertschicht) — die Bewegung selbst ist ihrem Typus nach auch die gleiche, auffällig aber sind die oft enormen Gestaltsveränderungen und gleichzeitigen Strömungen des Plasmas. Das Plasma ist bei den erwachsenen Formen mit Paraglykogenkörnern erfüllt, außerdem chromatoiden oder chromatischen Körpern, deren Genese und Bedeutung Hesse (1909) näher untersucht hat.

Die Entwicklung in der Cyste.

Zum Zwecke der geschlechtlichen Fortpflanzung finden sich auch bei den Monocystideen zwei Exemplare zusammen: entweder geschieht das sehr frühzeitig, indem sich bereits sehr junge Stadien aneinanderlagern, oder die Gregarinen bleiben bis kurz vor Beginn der Encystierung getrennt. Die Art und Weise der Aneinanderlagerung ist noch mannigfaltiger als bei den Polycystideen: sie geht seitlich, mit den Vorderenden, oder sogar gekreuzt *(Lithocystis)* vor sich. Geschlechtliche Differenzen der Einzeltiere sind noch nicht festgestellt außer in den Cysten bei *Stomatophora coronata* Léger u. Duboscq 1909). Nach der Ausbildung der Cystenhülle, die z. B. bei den *Monocystis*-Arten der Samenblase der Regenwürmer in der Samenblase vor sich geht, erfolgt die erste Kernteilung in ähnlicher (nicht gleicher) Weise wie bei den oben beschriebenen Polycystideen; die Nucleolen des Riesenkerns verschwinden allmählich, und es zeigen sich außerhalb der Kernmembran, ihr aufsitzend, gewaltige Polstrahlungen mit oder ohne centrosomatische Gebilde. Inzwischen sind im Kerninnern (der Darstellung Mulsow's 1911 für *Monocystis rostrata* folgend) Knäuel von feinen Chromatinfäden aufgetreten; diese werden von den beiden Strahlungszentren erfaßt, indem die Kernmembran an einer Stelle platzt, und zu einer im Verhältnis zum ganzen Kern sehr kleinen Spindel auseinandergezogen: nach einer typisch mitotischen Teilung entstehen dann die beiden ersten Tochterkerne. Der Vorgang scheint nicht überall der gleiche zu sein (wie sicher auch nicht bei den Polycystideen); der letztgeschilderte läßt kaum noch einen Vergleich mit Makro- und Mikronukleus der Infusorien zu, bei anderen Formen scheint das wieder mehr der Fall zu sein. Untersuchungen über diese Kernteilung sind angestellt von Siedlecki (1899), Cuénot (1901), Prowazek (1902), Brasil (1905), Hoffmann (1909) und Mulsow (1910). Der „vegetative“ Rest des Hauptkernes wird entweder bald aufgelöst oder verteilt sich im Plasma.

Die Teilungen der Tochterkerne gehen ebenfalls durchweg mitotisch vor sich. Es treten dabei wieder die schon oben erwähnten „Attraktionskegel“ an den Polen der Mitosen auf (z. B. *Urospora* Brasil 1905), auch axiale Chromosome sind nachgewiesen, Karyosome manchmal, aber nirgends mit voller Sicherheit. Wesentliche Verschiedenheiten im Verhalten der beiden Einzeltiere der Cyste sind dabei nicht vorhanden — zu bemerken wären höchstens die Formverschiedenheiten der beiden Konjuganten bei *Lankesteria ascidiae* (Fig. 12). Nach einer gewissen Zahl von Teilungen rücken die Kerne an die Oberfläche des nunmehr in mäandrische Partien zerfallenden Plasmas der Einzeltiere.

Reduktionsteilungen.

Auf dem eben genannten Stadium konnte Mulsow (1911) bei *Monocystis rostrata* Teilungen auffinden, die als Reduktionsteilungen anzusehen sind, da er bei früheren Kernteilungen 8, bei diesen letzteren aber nur 4 Chromosomen nachwies. In den Äquatorialplatten derselben waren 8 zu zweien parallel gelagerte Chromosomen vorhanden. Eine zweite Reifeteilung vermochte Mulsow nicht nachzuweisen. Der Befund ist um so interessanter, als die bisher aufgefundenen Reifeteilungen bei der Gattung *Gregarina*, wie oben dargestellt, ganz anders verlaufen sollen, nämlich an den bereits abgelösten Gameten vermittels ungleicher Teilungen.

Ausbildung der Gameten.

Für *Lankesteria ascidiae* wies Siedlecki Isogamie (Fig. 12) nach, und man hat nachher diesen Befund für die Monocystideen verallgemeinern zu können geglaubt. Aber in ähnlicher Weise bei den Polycystideen, bei denen eine schärfere Untersuchung

die wenigen für isogam gehaltenen Fälle als anisogam nachwies, verringert sich auch bei den Monocystideen die Zahl der für isogam gehaltenen Arten. BRASIL (1905) wies Anisogamie bei *Urospora, Gonospora* und *Monocystis*-Arten aus *Lumbricus herculeus* nach und zog die Angaben SIEDLECKI's in Zweifel; HOFFMANN (1909) fand dasselbe in noch ausgeprägterer Form bei *Monocystis*-Arten aus *Lumbricus agricola* (Fig. 16), betont aber, daß sich höchstwahrscheinlich nicht alle von ihm gesehenen Arten in gleicher Weise anisogam verhielten. Die Differenzen der von BRASIL (1905) beschriebenen Gameten sind nicht sehr bedeutend, der männliche Gamet ist nur etwas kleiner, besitzt einen kleineren chromatinreicheren Kern als der weibliche, aber bei beiden liegen die Kerne exzentrisch unter dem „Attraktionskegel", und ist der Körper

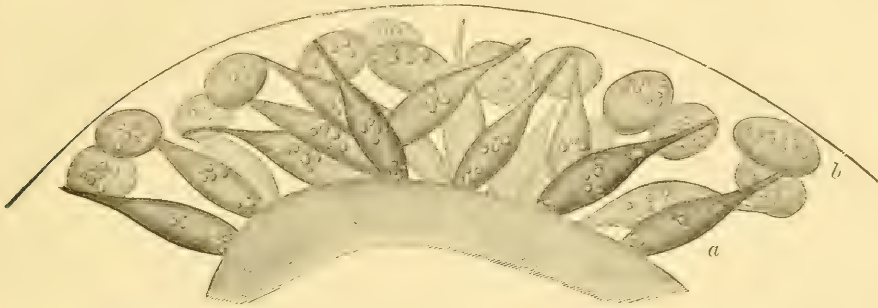


Fig. 14. *Monocystis* aus *Lumbricus agricola* (nach HOFFMANN). Teil einer Cyste mit männlichen (*a*) und weiblichen (*b*) Gameten. Lebend.

schwach birnförmig. HOFFMANN (1909) konnte die Gametenbildung im Leben verfolgen: er sah, wie sich zunächst kugelförmige Plasmakörperchen an den Oberflächen beider mäandrisch gefalteter und zerfallener Einzeltiere hervorwölben, sodann die des einen Tieres (des Männchens) spindelförmig werden, während die anderen kugelig bleiben. Diese Gestalt behalten sie auch, wenn sie frei werden — wie lange, konnte HOFFMANN freilich nicht feststellen, da er sie lebend nicht bis zur Kopulation verfolgen konnte Die Abbildungen der konservierten Gameten stimmen mit dem im Leben Beobachteten nicht ganz überein; die cytologischen Verhältnisse erinnern an BRASIL's Angaben. Vielleicht fehlen noch einige Zwischenstadien.

Die Sporocysten.

Nach der Kopulation der Gameten wird die Sporocyste in ganz übereinstimmender Weise wie bei den Polycystideen gebildet: d. h. mitotische Entstehung von 8 Kernen und entsprechend 8 Sporozoiten in der aus Exospore und Endospore gebildeten Schale. Während des Wachstums werden bei *Monocystis rostrata*, wie MULSOW (1911) feststellte, die Sporocysten in ähnlicher Weise, wie bei der Gattung *Gregarina* beschrieben, in den Plasmarestkörper aufgenommen, worauf sie sich in der Mitte sammeln. MULSOW machte dabei die interessante Entdeckung, daß sie sich während des Aufenthaltes im Plasmarestkörper mit Glykogenschollen beladen.

Infektion neuer Wirtstiere.

Bei den Monocystideen stößt die Beantwortung der Frage, wie die Infektion neuer Wirtstiere erfolgt, auf einige Schwierigkeiten, die auch zum größten Teil noch nicht gelöst sind. Bei den Darmgregarinen werden die Cysten mit dem Kot aus dem Darm entleert; wie aber bewirken sie z. B. von der Samenblase und Leibeshöhle der Regenwürmer aus die Infektion eines neuen Wirtes? CUÉNOT (1892) fand bei *Urospora synaptae* frei in der Leibeshöhle schwimmende Cysten: er nahm an, daß sie

mit dem Tode des Wirtes oder bei einer vorkommenden Autotomie frei würden. Beide Möglichkeiten könnten z. B. auch für *Cystobia chiridotae* angenommen werden. Minchin (1893) glaubt, daß die Cysten der Cystobien aus der Leibeshöhle der Holothurien bei der Ausschleuderung der Cuvier'schen Organe frei werden — bei Cystobia aus *Holothuria tubulosa* jedoch, die keine Cuvier'schen Organe besitzt, sollen die mit langen Stacheln versehenen Sporocysten sich selbsttätig durch die Körperwand hindurchbohren. Im allgemeinen wird man, mit Hesse (1909), geneigt sein, anzunehmen, daß der wahrscheinlichste Weg der ist, daß die Cysten beim Tode und Zerfall des Wirtes frei werden. Die Sporocysten werden dann frei, indem die Cystenhülle zerfällt. Vielleicht nehmen, wie Hesse vermutet, auch die vielen Feinde z. B. der Regenwürmer an der Verbreitung der Monocystiscysten teil, indem sie die Sporocysten mit dem Kot verstreuen (Léger u. Duboscq geben allerdings 1902 an, daß z. B. im Darmsaft von Caraben und Vögeln die Monocystis-Sporocysten bereits geöffnet werden).

Der Umstand, daß die Entwicklung vieler Monocystideen, insbesondere der Samenblasen-Parasiten, sich außerordentlich streng nach bestimmten Zeiten richtet (z. B. findet man alle Stadien der geschlechtlichen Entwicklung von Monocystis aus den Samenblasen des Regenwurmes fast nur im Frühjahr), läßt vermuten, daß die Infektion durch Fressen von Sporocysten nicht zu allen Zeiten erfolgreich verläuft, und in der Tat hat Hesse (1909) für eine Anzahl Arten nachgewiesen, daß sie streng an bestimmte Stadien der Entwicklung der Samenelemente gebunden sind. Falls diese fehlen, können die Sporozoiten sich eben nicht weiter entwickeln.

Brasil (1908) gibt für *Gonospora varia* und *Urospora lagidis* z. B. an, daß die geschlechtlichen Stadien nur während etwa 20 Tagen im Jahr zur Zeit der Geschlechtsreife der Würmer zu finden seien.

Diese Tatsachen damit erklären zu wollen, daß die Cysten mit dem Geschlechtsakt übertragen werden, dürfte falsch sein, da sich auch junge nicht geschlechtsreife Würmer infiziert finden.

Wenn es auch bisher trotz mehrfacher Versuche nicht gelungen ist, die Entwicklung der Sporozoiten vom Ausschlüpfen aus den Sporocysten an zu verfolgen, so kann doch kaum daran gezweifelt werden, daß die Infektion vom Darmkanal aus erfolgt, so wie bei allen Polycystideen. Das Ausschlüpfen der Sporozoiten selbst unter Einwirkung des Darmsaftes der Regenwürmer und im Darm derselben ist mehrfach (Hesse (1909), Mulsow (1911)) beobachtet worden: es geht so vor sich, daß sich kleine Pfropfen an den Enden der Sporocysten auslösen, und so Öffnungen für die Sporozoiten frei werden.

Ziemlich junge Stadien einiger Arten konnte Hesse (1909) beobachten und jedenfalls feststellen, daß die spätere Entwicklung nicht so einheitlich extracellulär (d. h. so, daß der Hauptteil des Körpers sich immer außerhalb der Zelle befindet) wie bei den Polycystideen erfolgt, sondern bei einigen anderen Arten intra-, bei zum Teil nahe verwandten extracellulär. Die erste Entwicklung ginge natürlich immer intracellulär vor sich, falls in der Tat ein Wachstum stattfinden sollte, während die Darmzellen durchwandert werden. Ein schönes Beispiel für den ersteren Fall ist *Rhynchocystis pilosa* in den „pokalförmigen Zellen" der Samenblase, denen sie später als erwachsene Gregarine aufsitzt, ebenso die Entwicklung von *Monocystis agilis* in den Blastophoren; extracellulär wächst z. B. *Pleurocystis cuénoti* Hesse und *Nematocystis magna* Hesse.

Die Schizogregarinen.

Den Eugregarinen fehlt, wie dargestellt, eine ungeschlechtliche Vermehrung während der Wachstumsperiode völlig (die Befunde Pfeffer's 1910 bei Mehlwurm-

gregarinen sind nicht überzeugend). Im Gegensatz dazu sind die Schizogregarinen durch eine solche ungeschlechtliche Vermehrung charakterisiert (dagegen stehen zunächst nur die Behauptungen CAULLERY's und MESNIL's, daß die Selenidien (s. S. 511) wahrscheinlich zum Teil schizogonische Vermehrung aufweisen, zum Teil nicht).

Daß bald die Frage aufgeworfen wurde, ob die Schizogonie eine primäre Erscheinung der betreffenden Gattungen oder ob sie neu erworben ist, erscheint erklärlich; denn der Gedanke, daß die Schizogregarinen eine Übergangsgruppe zu den Coccidien sein könnten, regte ohne weiteres dazu an. LÉGER neigt dazu, anzunehmen, daß die Stammformen der Gregarinen eine typische Schizogonie gehabt haben, die dann bei den Eugregarinen verschwunden oder vielmehr auf die riesige Kernvermehrung zu Anfang der Cystenentwicklung („Lobulation") reduziert sei, daß Schizogregarinen also in der Tat gemeinsame Stammformen der Coccidien und Gregarinen gewesen sein könnten. Leider ist die Entwicklung der Aggregaten (siehe unter V), vor allem die Befruchtung noch nicht endgültig klargestellt, sonst würden sie die Frage am ehesten entscheiden können: jedenfalls ist es Tatsache, daß die anisogame Befruchtung bei ihnen nicht innerhalb einer Cyste, sondern frei wie bei den Coccidien erfolgt. FANTHAM meint, daß die Schizogonie eine Neuerwerbung sei, MESNIL (hauptsächlich auf Grund seiner Selenidienstudien), daß die Gruppe der Schizogregarinen phylogenetisch gar nicht einheitlich sei. Wichtig scheinen für diese letztere Auffassung die Schizocystideen zu sein, für die von LÉGER (1909) nachgewiesen wurde, daß sie mit den Actinocephaliden (s. S. 511), einer hoch differenzierten Gruppe der Eugregarinen, nahe verwandt sind (Übereinstimmungen in Bau der Gameten und Sporocysten). Die Schizogonie der ersteren ist kaum anders als eine Neuerwerbung zu erklären, andernfalls müßte man annehmen, daß die Actinocephaliden ihre Schizogonie erst reduziert hätten, als die Charaktere der Gameten und der Sporocystenbildung innerhalb der Gruppe bereits hoch spezialisiert waren.

Immer aber würde *Schizocystis* eine sehr isolierte Stellung innerhalb der Schizogregarinen einnehmen. Ebenso stark gesondert ist *Ophryocystis* (s. S. 503 ff.), bei der die Cyste nur zwei Isogameten (= 1 Sporocyste) liefert. Die anderen Gruppen der Schizogregarinen, die Selenidien, die Aggregaten und Porosporiden, sind ebenfalls stark different: die beiden letzteren besitzen sogar einen Generationswechsel. Es spricht also sehr viel dafür, daß die zu den Schizogregarinen zusammengefügten genannten fünf Gruppen ziemlich isolierte und womöglich sehr fern voneinander entspringende Zweige am Stammbaum der Gregarinen sind.

Im Folgenden seien nur Ophrycystis und Aggregata dargestellt.

IV. *Ophryocystis.*

Die Kenntnis dieser Organismen und ihrer Entwicklung verdanken wir den Arbeiten A. SCHNEIDER's (1883), LÉGER's und HAGENMÜLLER's (1900), LÉGER's und HESSE's (1905) und vor allem LÉGER's (1909). Die bis jetzt beschriebenen Arten leben in den MALPIGHI'schen Gefäßen von Käfern.

1. Schizogonie.

Ophryocystis besitzt in den erwachsenen vegetativen Stadien (wie alle Schizogregarinen außer *Porospora,* die eine Andeutung einer Scheidung in Protomerit und Deutomerit aufweist) einen unsegmentierten Körper (Fig. 15 c), der zum Zweck der Anheftung an die Zellen der MALPIGHIschen Gefäße des Wirtes mit pseudopodienartigen aber rigiden Fortsätzen versehen ist. Die Fortsätze (Radicellen) können mehr oder minder tief in das Epithel eindringen, ihre Zahl ist unbestimmt. Andere Stadien

derselben Art (die sog. „schizontes mycétoides“ Léger's) haben ganz das Aussehen von Myxomycetenplasmodien (Fig. 15a), gewissen Arten fehlen die erwähnten Radicellen ganz. Die Körpergestalt ist so wenig gregarinenähnlich, daß erst die Kenntnis der Encystierung und der Sporocyste mit ihren typischen 8 Sporozoiten die Zugehörigkeit dieser von A. Schneider (1884) Amöbosporidien benannten Gruppe zu den Gregarinen klarstellte.

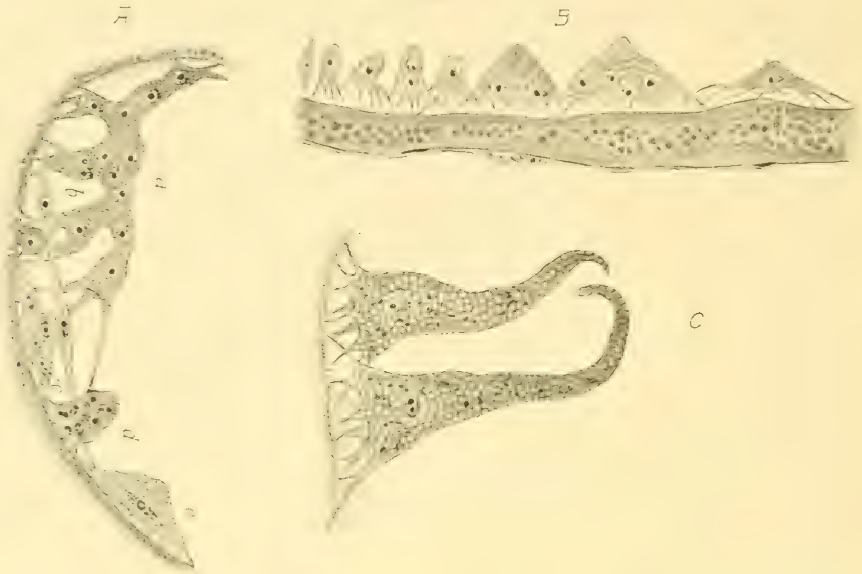


Fig. 15. Nach Léger 1907. *A* Schnitt durch ein malpighisches Gefäß von *Olocrates gibbus* mit *Ophryocystis hagenmülleri* Léger. *a—d* verschiedene Stadien der mycetoiden Schizonten. *e* gregarinoïder Schizont. *B* Schnitt durch ein malpighisches Gefäß von *Tenebrio molitor* mit *Ophryocystis mesnili* Léger. *C Ophryocystis Schneideri* Léger aus *Blaps magica*. Geschlechtsformen.

Der Sporozoit von *Ophryocystis* wächst extracellulär, d. h. nur oberflächlich an eine Wirtszelle angeheftet heran (Fig. 15), wird birnförmig und plattet sich an der Seite ab, an der die erwähnten Radicellen hervorsprossen (Fig. 15c). Der anfänglich in der Einzahl vorhandene Kern vermehrt sich mitotisch in sehr viele, bis zu 80 (Fig. 15 A). Mit E.H. und Orange färbt sich das Plasma blaugrau. Soviel Kerne wie vorhanden sind, soviel Merozoiten werden gebildet — die Plasmaverteilung kann dabei in zweierlei Weise erfolgen (bei derselben Art, z. B. *Ophryocystis hagenmülleri* Fig. 15 A, 16), nämlich durch Plasmotomie oder durch Knospung (d. h. entweder zerfällt der ganze Körper in vielkernige Lappen, die mit ihren Radicellen an das Epithel angeheftet bleiben und allmählich in einkernige zerfallen, oder die Kerne sammeln sich zunächst an der Oberfläche, um jeden bildet sich eine Plasmaknospe und die Merozoiten werden alle gleichzeitig frei). Die Schizonten dieser Art werden nach Léger „mycetoide Schizonten“ genannt (Fig. 15 A, a—e und Fig. 16b). Die von ihnen gebildeten Merozoiten können die eben beschriebene Schizogonie wiederholen, oder sie wachsen zu den sog. „gregarinoiden Schizonten“ heran. Außer durch andere Merkmale sind diese vor allem dadurch gekennzeichnet, daß die Zahl der Kerne höchstens bis auf 4 steigt, das Plasma sich mit E.H. und Orange gelblich färbt und die Körperform mehr kegelförmig gregarinenförmig ist. Durch Spalten, die von der Anheftungsfläche ausgehen, teilen sie sich in wenige gleichartige Merozoiten (Fig. 15 Ae). Die Form der gregarinen-

förmigen Schizonten ist ziemlich konstant, aber für die verschiedenen Arten verschieden — die der mycetoiden Schizonten ist variabler. Bemerkenswert ist noch, daß die ersteren bei allen Arten gefunden wurden, die letzteren nicht.

Aus den einkernigen Merozoiten wachsen dann endlich die Geschlechtsformen, die sich später zu zweien in einer Cyste vereinigen, heran — ihr Plasma färbt sich mit

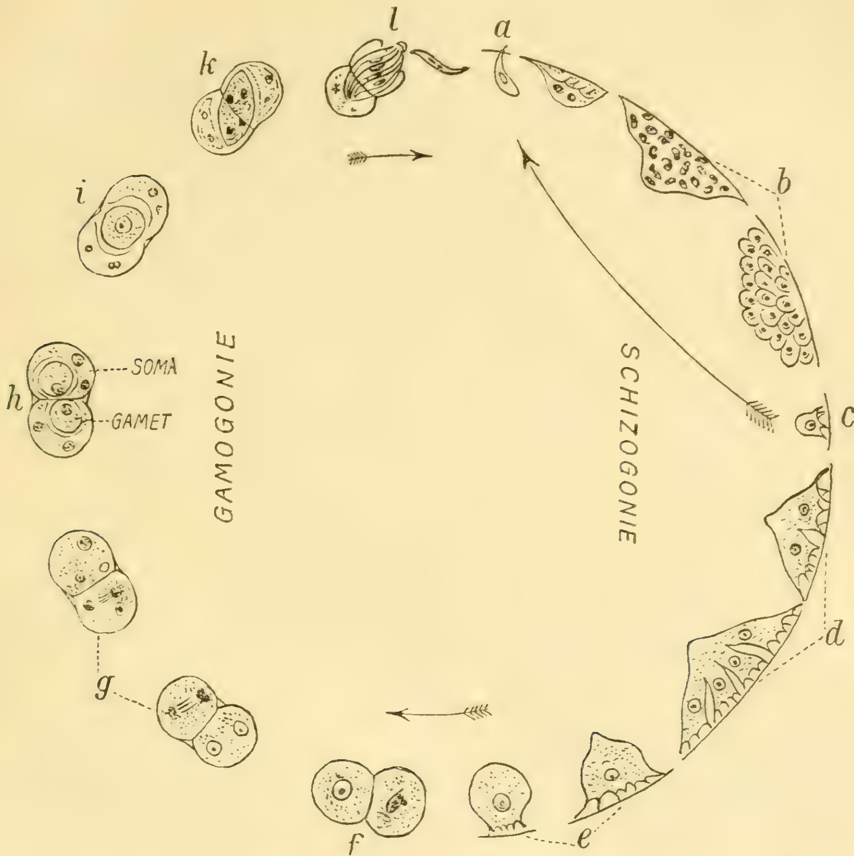


Fig. 16. Schema der Entwicklung von *Ophryocystis* (nach Léger 1907). (Typus *Ophryocystis hessei.*) *a* Sporozoit. *b* „mycetoide" Schizonten. *c* Merozoit. *d* „gregarinoïde" Schizonten. *e* Geschlechtsformen. *f* Cystenbildung. *g* Kernvermehrung in der Cyste. *h* Bildung der zwei Gameten. *i* Nach der Copulation der Gameten. *k* Sporocyste. *l* Ausschlüpfende Sporozoïten.

E.H. und Orange gelb, und ihr Kern vermehrt sich erst in der Cyste. Vor der Cystenbildung sind sie stets mit Radicellen an das Plasma angeheftet (Fig. 16e).

Der ebenfalls doppelte schizogonische Zyklus bei *Schizocystis* („schizontes massifs" und „vermiformes") scheint mit dem eben geschilderten von *Ophryocystis* nicht vergleichbar zu sein.

Die Kernteilungsart während der Schizogonie ist als vereinfacht mitotisch zu bezeichnen. Der ruhende Kern besitzt ein Karyosom, unregelmäßig verteiltes Chromatin im Kernraum, ein der Kernmembran aufsitzendes Centrosom und schließlich neben dem Karyosom noch ein kleines distinktes Gebilde, das Léger „grain karyosomien" nennt. Zur Kernteilung teilt sich das Centrosom und das „grain karyosomien"

in je zwei, das Chromatin legt sich in dichteren und gröberen Brocken um das Karyosom, das abblaßt: die Chromatinmenge wird in zwei Teile auseinandergezogen, in jeden rückt eins der neuen „grains karyosomiens", und das Karyosom fällt in der Regel ins Plasma und löst sich auf, um im neuen Kern neugebildet zu werden. Also keine Chromosomenbildung, kein Spirem- und kein Monasterstadium — diese Kernteilung soll für *Ophryocystis* während der Schizogonie und Sporogonie typisch sein.

2. Die geschlechtliche Fortpflanzung.

Die unbeweglichen reifen Geschlechtsformen (Fig. 17a) werden durch den Zufall zu zweien aneinandergetrieben, umgeben sich mit einer feinen Hülle und schreiten zu einer ersten Kernteilung (der eben beschriebenen Art). Diese Teilung liefert einen „somatischen" Kern und einen Geschlechtskern — der letztere wird durch eine weitere Teilung zum Gametenkern (Fig. 17b—e). Die Teilung ist eine Reduktion, da Léger auch eine zahlenmäßige Reduktion der Chromatinelemente nachwies. Um den Gameten-

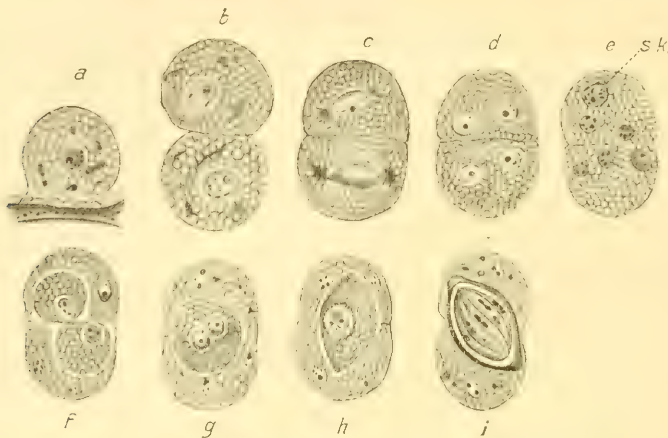


Fig. 17. (Nach (Léger.) *Ophryocystis mesnili* Léger. Cystenbildung. *a* Geschlechtsform. *b* Aneinanderlagerung der Geschlechtsformen. *c—e* Bildung eines somatischen Kerns (*s K*) und Reduktion des Gametenkerns. *f* Bildung zweier Isogameten. *g—h* Copulation der Gameten. *i* Sporocyste.

kern schnürt sich in beiden Tieren gleichmäßig eine runde Plasmamasse ab, und es werden so zwei Isogameten gebildet (Fig. 17f). Die Isogamie ist nicht nur in der Form der Gameten ausgeprägt, sondern auch darin, daß die Muttertiere durchaus keine geschlechtlichen Differenzen zeigen, ferner darin, daß jeder Gamet späterhin in Ausnahmefällen ohne Befruchtung parthenogenetisch eine Sporocyste liefern kann. Der somatische und der Reduktionskern degenerieren allmählich mit dem kappenförmigen „Soma", in dem sie liegen.

Nach der Gametenverschmelzung wird entsprechend der Zweizahl der Gameten nur eine Sporocyste mit 8 Sporozoiten geliefert (Fig. 17g—i), bei manchen Arten mit mehrfachen Schutzhüllen. Die Sporocysten vermitteln die Neuinfektion derselben Wirtsart in der gewöhnlichen Weise.

V. Aggregata.

Über die Aggregatiden steht durch die Forschungen Léger's und Duboscq's (1906, 1907) und Moroff's (1906, 1907, 1908) sicher fest, daß sie in höchst eigen-

artiger Weise eine schizogonische Entwicklung im Cölom von Krustaceen (= den alten *Aggregata* FRENZEL's, die jetzt den neuen Geschlechtsnamen geliefert haben, von FRENZEL selbst aber auch noch mit der neueren Polycystideen-Gattung *Frenzelina* zusammengeworfen wurden), ihre Sporogonie im Darme von Cephalopoden (= den alten *Klossia, Benedenia, Eucoccidium* aus diesen Wirten) durchmachen. Bemerkt sei aber ausdrücklich, daß über die systematische Stellung der Aggregaten noch Zweifel herrschen dürfen: es handelt sich um die Sporogonie, die von SIEDLECKI (1898) eingehend studiert wurde und nach ihm äußerst coccidienähnlich ist. Die Arbeit MOROFF's hat leider in einem Punkte keine ausreichende Klarheit gebracht, ob die Befruchtung an den Sporoblasten erfolgt (MOROFF) oder schon vor den Teilungen zu den sog. Sporoblasten (SIEDLECKI), die in ersterem Fall also den Makrogameten der Gregarinen, in letzterem den noch einkernigen Sporen der Coccidien entsprechen würden. Freilich sprechen soviel Merkmale für die Gregarinennatur (hauptsächlich die Ähnlichkeit der Schizogonie mit der der höchstwahrscheinlich auch digenetischen sicheren Gregarine *Porospora*), daß sie ihren Platz wenn nicht bei, so doch in der Nähe der Gregarinen immer behalten werden.

Schizogonie.

Der schizogonische Zyklus der Aggregaten geht in Krabben vor sich *(Portunus arcuatus, depurator, holsatus, Inachus dorsettensis, Carcinus maenas, Eupagurus prideauxi, Stenorhynchus phalangium, Homarus gamarus* usw.), wobei nicht alle Arten auf einen Wirt beschränkt sind; die Sporogonie vollzieht sich in Cephalopoden, die sich von Krabben nähren. Die Zusammengehörigkeit der beiderlei Cysten ist experimentell sicher gestellt. Die Entwicklung in den Krabben ist von LÉGER u. DUBOSCQ (1908) in ausgezeichneter Weise studiert worden.

Der Sporozoit von *A. eberthi* (aus Sporocysten aus dem Darm von Octopoden) schlüpft im Darm von *Portunus arcuatus* durch die Darmzellen hindurch zwischen die Zellen der Submucosa und wächst dort in ungefähr 2 Wochen zu einem rundlichen unregelmäßigen Schizonten heran. Man unterscheidet zwei Arten von Schizonten; die einen haben eine dickere Körperhülle, die anderen eine dünne, außerdem bestehen Differenzen in der Größe, der Menge der Chromidialkörner, dem Bau des Maschenwerks des Plasmas und der Größe der Paramylonkörner. Es ist noch nicht genügend begründet, wenn man die ersten als weibliche, die letzten als männliche Schizonten bezeichnet. Der Verlauf der Schizogonie ist bei beiden derselbe. Nach einer eigentümlichen mitotischen Kernvermehrung (siehe unten) faltet sich das Plasma, wobei die Kerne, insbesondere die Centrosome, immer an der Oberfläche der Falten bleiben. Um viele kleine kugelige Plasmarestkörper bilden sich schließlich die zahlreichen sporozoitenförmigen Merozoite heraus, innerhalb der ursprünglichen Körperhülle und einer zweiten unter ihr neu gebildeten Cystenhülle (Fig. 18). Es hat den Anschein, als ob die Merozoiten wieder geschlechtlich differenziert sind.

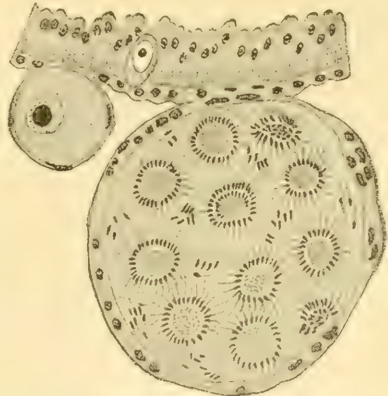


Fig. 18. *Aggregata vagans* LÉG. und DUB. (Nach LÉGER und DUBOSCQ.) Junge Gregarine durch das Epithel wandernd, und Coelomcysten, jung und in Schizogonie begriffen. Vergr. 250.

Während dse Größenwachstums der Schizonten gehen im Kern, besonders im Karyosom sehr merkwürdige Umformungen und Absonderungen von verschiedenartigen Substanzen vor sich, die von Léger u. Duboscq näher verfolgt sind (Fig. 19 A). Diese Untersuchungen sind von großer Wichtigkeit für unsere Kenntnis der Tätigkeit des Gregarinenkerns überhaupt, da hier die Prozesse morphologisch und färberisch sehr gut zu verfolgen sind. Es würde zu weit gehen, sie hier näher darzulegen. Die Kernteilung geht in folgender Weise vor sich: der Kern (Fig. 19 A u. B) rückt ganz

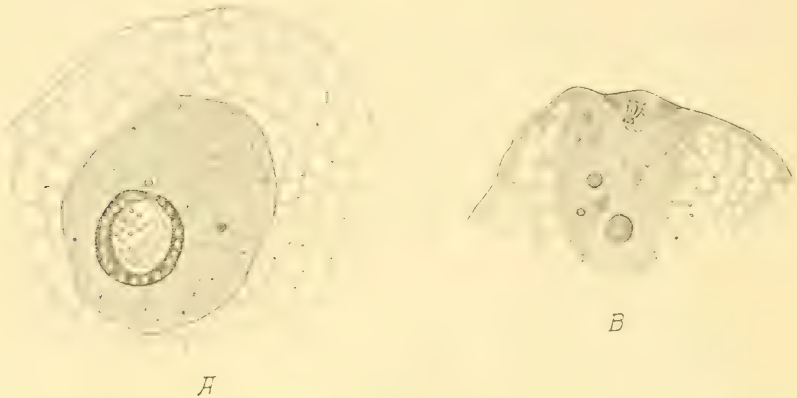


Fig. 19. *Aggregata eberthi* (Labbé). Kern zu Beginn der Schizogonie vor (*A*) und während (*B*) der ersten Teilung. Nach Léger und Duboscq 1908.

an die Oberfläche des Körpers, die sich an dieser Stelle einbuchtet, und seine Membran wird aufgelöst, so daß der Kernstoff ins Plasma übertritt. Gleichzeitig wird ein feines achromatisches Spirem gebildet, das merkwürdigerweise immer mit dem Karyosom in Verbindung zu stehen scheint; es wird stärker färbbar, zieht sich zusammen und lokalisiert sich schließlich in einem kleinen „Mikronucleus", wobei allmählich das Fadenwerk des Spirems wieder verschwindet. Der Mikronucleus hat typische Kernnatur mit Wabenwerk und Nucleolen im Kernsaft — der ganze Vorgang erinnert lebhaft an die für die Eugregarinen beschriebene erste Kernteilung während der Sporogonie. Zu bemerken ist, daß bei den folgenden Kernteilungen auch die „axialen Chromosome" wiedergefunden werden.

Geschlechtliche Entwicklung.

Die geschlechtliche Entwicklung der Aggregaten erfolgt in Cephalopoden (z. B. die von *Aggregata eberthi* im Spiraldarm von *Sepia*), und zwar kann sie nur dadurch in die Wege geleitet werden, daß die Cephalopoden die Krabben fressen, und so die am Darm im Cölom der letzteren hängenden Schizogoniecysten in den Darm der ersteren gelangen. Die kleinen Merozoiten dringen zwischen die Darmzellen bis in die Submucosa ein und wachsen zu kugeligen, coccidienähnlichen Gebilden heran. Es scheinen wieder geschlechtliche Differenzen zu bestehen. Die Sporogonie, die nun einsetzt, ist insofern der der Gregarinen unähnlich und der der Coccidien ähnlich, als die Gametenbildung nach Moroff (1909) frei an den einzelnen Tieren und nicht in Cysten erfolgt. Die Kernteilungsvorgänge, auch die erste Kernteilung, sind ebenfalls denen der anderen Gregarinen wenig ähnlich, aber außerordentlich kompliziert und so mannigfaltig bei den verschiedenen Arten und auch bei Männchen und Weibchen der einzelnen Arten, daß es schwer möglich ist, hier in kurzen Worten eine klare Darstellung zu geben (verwiesen sei nur auf die beiden Einzelfiguren 20

und 21). Falls die Befruchtung auf einem anderen Stadium stattfindet, als MOROFF vermutet, würden die Bilder auch eine ganz andere Deutung erfahren müssen. Hier sei nur gesagt, daß Männchen und Weibchen sich bereits vor der Gametenbildung (im MOROFF'schen Sinne, der die Darstellung von SIEDLECKI 1898 entgegensteht)



Fig. 20. *Aggregata légeri* MOR. aus dem Spiraldarm von *Octopus*. (Nach MOROFF 1908). Teil eines einkernigen erwachsenen Parasiten kurz vor dem Beginn der Teilungen zur Bildung der Gameten. Wurstförmiges geschlängeltes Karyosom.

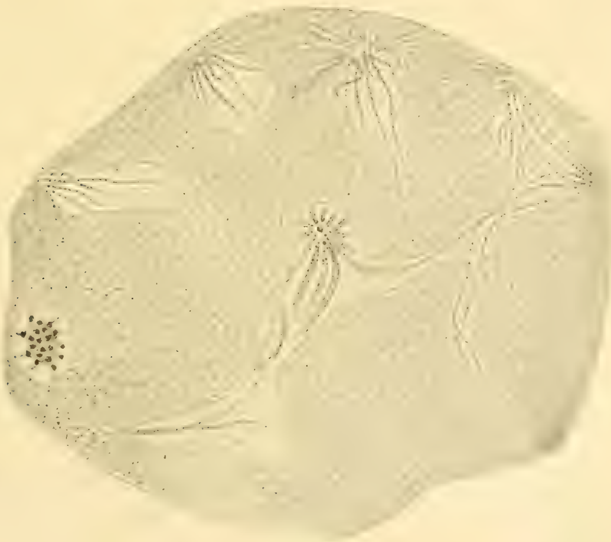


Fig. 21. *Aggregata légeri* aus dem Darm von *Octopus*. Kernvermehrung vor der Bildung der Gameten. Nach MOROFF (1908).

ziemlich beträchtlich unterscheiden. Auf der Oberfläche mäandrischer Falten der weiblichen Einzeltiere entstehen die kugelförmigen Makrogameten, während die Männchen bereits früher in kugelige mehrkernige Stücke zerfallen. An letzteren werden nun die kompliziert gebauten zweigeißeligen Mikrogameten in Mehrzahl zur Entwicklung gebracht — schon die Begeißelung derselben erinnert sehr an die Mikrogameten der Coccidien (Fig. 22). Die Befruchtung erfolgt im Darm der Cephalo-



Fig. 22. Mikrogametenentwicklung bei *Aggregata spinosa*. Nach Moroff (1908).

poden nach Moroff, indem diese Mikrogameten mit den eben beschriebenen Makrogameten verschmelzen. Nach Siedlecki würde sie am Anfang aller Kernteilungen der weiblichen Elemente erfolgen. Die Frage kann nur durch neue Untersuchungen entschieden werden. Jedenfalls bilden sich um die kugeligen Elemente Sporocystenhüllen, und in diesen werden je nach der Spezies 3—24 Sporozoiten entwickelt. Die reifen Sporocysten, die manchmal mit Stacheln besetzte Hüllen besitzen, gelangen mit den Exkrementen der Cephalopoden ins Wasser und vermitteln nun von neuem die Infektion der Krabben.

C. Das System der Gregarinen.

A. *Eugregarinaria* (Doflein). — Greg. ohne Schizogonie.

I. *Monocystidea.* — Keine Scheidung des Körpers in Deutomerit, Protomerit und Epimerit. Häufig ein epimeritähnliches Organ.

1. Coelom-Monocystideen. — Isolierte phylogenetisch wenig zusammengehörige Gruppen. Z. B. stehen die Coelomgregarinen der Insekten den Polycystideen näher als den Monocystideen.

Gattungen: z. B. *Monocystis, Diplocystis, Syncystis, Cystobia, Gonospora* usw.

2. **Darm-Monocystideen.**
Gattungen: z. B. *Lankesteria, Doliocystis, Kalpidorhynchus.*

II. ***Polycystidea.*** — Scheidung des Körpers in Deutomerit, Protomerit und Epimerit.

1. *Clepsidrinidae (= Gregarinidae)* einbezogen die *Didymophyidae.*
Gattungen: z. B. *Clepsidrina = Gregarina, Hyalospora.*
2. *Actinocephalidae* einbezogen *Acanthosporidae* + *Menosporidae.*
Gattungen: z. B. *Actinocephalus, Acanthospora, Menospora.*
3. *Stylorhynchidae.*
Gattungen: z. B. *Stylorhynchus.*
4. *Dactylophoridae.*
Gattungen: z. B. *Dactylophora, Nina, Echinomera.*
5. *Stenophoridae.*
Gattungen: z. B. *Stenophora, Frenzelina* (?).

B. ***Schizogregarinaria*** (Léger). — Greg. mit Schizogonie, z. T. mit Wirtswechsel.

I. ***Monosporea.*** — Je zwei geschlechtsreife Tiere liefern eine Sporocyste.

1. *Ophryocystidae.*

II. ***Polysporea***

1. *Schizocystidae.*
2. *Selenidiidae.*
3. *Aggregatidae* (?).
4. *Porosporidae.*

D. Einfluſs der Parasiten auf den Wirt und die Wirtszelle; Schutzmaſsregeln gegen die Infektion.

Es ist schon gesagt worden, daß eigentlich pathogene Formen unter den Gregarinen äußerst selten sind. Léger (1899) stellte fest, daß infolge einer sehr starken Infektion mit Gregarinen bei *Himantarium gabrielis* L. Enteritis und Diarrhöe eintrat. Bei Schaben, die immer wieder mit Sporocysten von *Gregarina blattarum* gefüttert wurden, konnte ich selbst feststellen, daß die Infektion schließlich so stark wurde, daß im Darm kein Platz für die Nahrung mehr vorhanden war und die Tiere eingingen. Léger u. Duboscq (1908) fanden, daß die *Portunus* bei starken Infektionen mit *Aggregata* starben. Die *Ophryocystis*-Arten verursachen in der Regel keine Krankheitserscheinungen, aber starke Infektionen bewirken Verstopfungen und Aufblähungen der Malpighi'schen Gefäße, und das Zurückhalten der Sekrete zeitigt stark pathologische Erscheinungen. Aggregaten vermögen nach Moroff (1908) dadurch, daß sie die Wirtszellen völlig aufzehren, eine stellenweise Zerstörung des Darmepithels der Octopoden hervorzurufen. Interessant ist die Angabe von Smith (1906), daß *Aggregata inachi* die Geschlechtsorgane von *Inachus* völlig zur Atrophie bringen kann, also eine totale Kastration bewirkt, auch dann, wenn die Aggregaten nur in der Submucosa des Darms leben (?). Von einer partiellen Kastration spricht Hesse (1909) bei manchen in den Samenblasen von Regenwürmern lebenden Monocystideen: die befallenen Blastophore werden erweitert und aufgebraucht, gleichzeitig die Kerne der aufgelagerten Samenzellen in die Blastophore gewissermaßen hineingezogen und zu stärkerer anormaler Vermehrung gereizt, woraus sich dann sterile, abortierte Spermatozoen entwickeln. Da der Hoden niemals befallen ist, tritt eine bedeutendere und nachhaltige Schädigung nicht ein.

Von den mannigfachen Arbeiten, die sich mit der Art der Einwirkung der Gregarinen auf die einzelne Zelle befassen, seien als die wichtigsten die von Léger u. Duboscq (1899 und 1902), Laveran und Mesnil (1900), Siedlecki (1900) und Brasil (1904) erwähnt. Im allgemeinen kann man sagen, daß einer Hypertrophie der ganzen Zelle (des Plasmas, des Kerns und z. B. bei *Pleurocystis cuénoti* Hesse sogar des Cilienbesatzes der „pokalförmigen Zellen") Hyperchromasie und Chromatolyse des Kerns und schließlich Atrophie der Zelle folgt.

Bemerkenswert ist der Fall von *Pyxinia möbuszi* u. *P. frenzeli* (Léger u. Duboscq 1902): die erstere Art schickt ihr langes Epimerit bis in die Blutlacunen des Cöloms und es erfolgt nur Hyperchromasie des Zellkerns der Darmzelle, bei der zweiten Art derselben Gattung reicht das Epimerit nur bis in die Darmzelle selbst, und es erfolgen alle obengenannten Zellveränderungen.

In anderen Fällen *(Nina, Gregarina acridiorum)* bleibt eine größere Zahl der von dem Epimerit und Protomerit einer Gregarine beeinflußten Zellen, z. B. Kryptenzellen, beständig auf einem jugendlichen Wachstums- und Vermehrungsstadium stehen, sie verfallen, wie Léger u. Duboscq (1902) es ausdrücken, „nicht dem Prozesse seniler Degeneration" (erfüllen ja auch niemals ihre Funktion, da sie das Darmlumen mit ihrer Oberfläche nicht erreichen).

Ein auch bei den Gregarinen weit verbreitetes Mittel zur Verteidigung gegen eine Infektion ist die Phagocytose; es liegen darüber viele Angaben vor, von denen nur folgende genannt seien: Cuénot (1901) und Léger u. Duboscq (1902) finden bei *Diplocystis,* nachdem sie das Epithel durchdrungen haben, viele von Phagocyten umhüllte Individuen, Brasil (1905) und Hesse (1909) dasselbe bei Monocystideen, Léger u. Duboscq (1903) bei Aggregaten, bei denen die Erscheinung sehr deutlich hervortritt. Bereits die Sporozoiten werden von Phagocyten innerhalb des Darmepithels zerstört; der demnächst kritischste Moment für das Auftreten der Phagocytose scheint der Beginn der Ausscheidung der Cystenhülle zu sein. Gerade die Aggregaten scheinen in einem beständigen Kampf mit den Phagocyten zu liegen, denn Moroff sowohl wie Léger u. Duboscq erwähnen, daß junge Krabben immer sehr stark infiziert sind, ältere dagegen, trotzdem sie denselben Infektionsmöglichkeiten andauernd wieder und länger als die jungen ausgesetzt sind, desto schwächer infiziert sind, je älter sie sind. Sie glauben, von einer gewissen auf Phagocytose beruhenden Immunität sprechen zu können.

Erwähnt sei noch die Beobachtung Légers u. Duboscqs (1908), daß Sporocysten von *Aggregata eberthi* in *Portunus puber* (Aggregaten-Arten sind meist nicht auf eine Krabbenart beschränkt) zwar geöffnet werden, die Sporozoiten auch auskriechen und wachsen, eine Infektion aber deswegen nicht erfolgt, weil alle Stadien von Phagocyten zerstört werden.

Zwei Beobachtungen einer Art von Agglutination im Darmsaft sind bei den Sporozoiten von *Nina gracilis* und *Stylorhynchus oblongatus* gemacht worden (Léger u. Duboscq 1904): die Sporozoiten werden unbeweglich und in kleinen Sternchen von 3—12 Stück zusammengetrieben.

Eine weitere Möglichkeit, die Infektion zu verhindern, ist darin gegeben, daß gerade zu der Zeit, wo bewegliche Sporozoiten im Darmlumen vorhanden sind, die sog. „peritrophische Membran" des Epithels abgestoßen und mit dem Kot ausgeschieden wird. Sie kann die Sporozoiten und vielleicht auch ältere Stadien mitreißen. Allerdings ist festgestellt (Léger u. Duboscq 1902), daß z. B. *Gregarina munieri* diese Membran durchdringen kann.

E. Technik der Untersuchung.

Konservieren der vegetativen Stadien nur mit dem Darm selbst oder auf feucht konservierten Deckglasausstrichen ohne Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung; Einschließen in Kanadabalsam oder Cedernholzöl führt häufig zu Schrumpfungen. Untersuchung der Bewegung in Tuscheemulsionen, der Bewegungsorganzelle durch Vergoldung. Hauptsächlich *Ophyrocystis*-Arten dürfen nicht in Kochsalzlösung gebracht werden (nach Léger; Konservieren derselben in Flemmings-Gemisch). Um die verschieden färbbaren Kernsubstanzen zu zeigen, empfiehlt sich Färbung mit dem Mann'schen Gemisch.

Für die morphologische Untersuchung der jüngeren Stadien ist es sehr wichtig, sich nicht durch die mannigfachen oft sehr gregarinenähnlichen Darmzelleinschlüsse täuschen zu lassen (worauf Léger und Duboscq 1902 hinweisen).

Technisch sehr schwierig ist die Untersuchung der Cysten, deren Hülle meist äußerst undurchlässig ist, wenigstens bei den Arten, deren Cysten zur Reifung in die Außenwelt gelangen. Eine einigermaßen brauchbare Konservierung erlangt man mit Osmiumgemischen, die man bis zur Schwärzung des Inhalts der Cysten einwirken läßt — feinere Strukturen, z. B. der Mitosen werden auch da stark verändert, häufig zerstört — falls nicht die Cystenhülle, wie das manchmal geschieht, während der Konservierung einen kleinen Riß bekommt. In wenigen Fällen kann man durch vorsichtiges Präparieren der lebenden Cysten die Hülle um die ganz unverletzten Tiere absprengen (*Echinomera*), bei *Gregarina* z. B. und vielen anderen gelingt das nie ohne weitgehende Zerstörung des Inhalts der Cyste. Nur die Gameten und die folgenden freien Stadien kann man auf feucht konservierten Ausstrichen des Cysteninhalts gut konservieren, auch Fetzen des Plasmas etwas früherer Stadien. Die Gameten sind auf allen Stadien äußerst empfindlich und formveränderlich. Zusatz von Kochsalzlösung bewirkt sofortige Abkugelung und Bewegungslosigkeit. Man muß von vornherein darauf verzichten, bei Cysten, die außerhalb des Gewebes reifen, brauchbare Totalbilder aller Stadien auf Gesamtpräparaten oder Schnitten durch die unverletzte Cyste zu bekommen, falls es nicht gelingt, die Hülle abzupräparieren, oder anzuritzen — auch das letztere Verfahren liefert meist nur Fetzen der ganzen Tiere, da die stark gespannte und elastische Cystenhülle nach dem Anstechen mit großer Kraft zusammenschnellt und den zerquetschten Inhalt in mehr oder minder feinem Strahl durch die gemachte Öffnung auspreßt.

Ausstriche von Gameten konserviert man nur minutenlang in Sublimat-Alkohol-Eisessig nach Schaudinn, andere Cystenstadien unter Beachtung obiger Angaben fast immer recht gut in dem Gemisch von Bouin, das die französischen Forscher sehr empfehlen:

Pikrinsäure 1 g
Eisessig 15 ccm
Formalin (= 40% wässeriger Formaldehydlösung) 60 ccm
80proz. Alkohol 150 ccm.

Literatur.

Eugregarinen.

I. Polycystideen.

Berndt (1902: Beiträge zur Kenntnis der im Darm der Larve von *Tenebrio molitor* lebenden Gregarinen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 1.)

Cuénot (1894:) Défense de l'organisme contre les Parasites chez les Insectes. (Compt. rend. Acad. Science. Paris Vol. 119.)

Doflein (1909): Lehrbuch der Protozoen-Kunde.

Léger (1904): La réproduction sexuée chez les Stylorhynchus. (Arch. f. Protistenk. Bd. 3.)

Léger und Duboscq (1902): Les Grégarines et l'epithelium intestinal chez les Trachéates. (Arch. de Parasitologie Bd. 6.)

Dieselben (1904): Nouvelles recherches sur les Grég. et l'epithélium intestinal chez les Trachéates. (Arch. f. Protistenk. Bd. 4.)

Dieselben (1909): Etude sur la sexualité chez les Grégarines. (Arch. f. Protistenk. Bd. 14.)

Lühe (1904): Bau und Entwicklung der Gregarinen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 4.)

Pähler (1904): Über die Morphologie, Fortpflanzung und Entwicklung von *Greg. ovata*. (Arch. f. Protistenk. Bd. 4.)

Schellack (1907): Entwicklung und Fortpflanzung von *Echinomera hispida*. (Arch. f. Protistenk. Bd. 9.)

Schnitzler (1905): Über die Fortpflanzung von *Clepsidrina ovata*. (Arch. f. Protistenk. Bd. 6.)

II. Monocystideen.

Brasil (1905): Recherches sur la réproduction des *Grégarines monocystidées*. (Arch. de Zool. exp. et générale (4) Bd. 3.)

Derselbe (1905): Nouvelles recherches sur la réprod. des *Grég. monocyst.* (Arch. de Zool. exp. et gén. (4) Bd. 4.)

Cuénot (1901): Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grég. (Arch. de Biologie. Bd. 17.)

Hesse (1909): Contribution à l'étude des Monocystidées des Oligochètes. (Arch. de Zool. exp. et gén. (5) Bd. 3.)

Hoffmann (1909): Monocystideen des *Lumbricus agricola*. (Arch. f. Protistenk. Bd. 13.)

Prowazek (1902): Zur Entwicklung der Gregarinen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 1.)

Siedlecki (1899): Über die geschlechtliche Vermehrung der *Monocystis ascidiae*. (Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie 1899.)

Ross (1909): A Gregarine parasitic in the dog-flea, *Ctenocephalus serraticeps*. (Ann. of trop. Med. Bd. 2.)

Schizogregarinen.

Brasil (1907): Recherches sur le cycle évolutif des Selenidiidae. (Arch. f. Prostitenk. Bd. 8.)

Caullery u. Mesnil (1901): Le parasitisme intracellulaire et la multipl. asexuée des Grég. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. Paris. Bd. 53.)

Fantham (1908): The Schizogregarina: a review and a new classification. (Parasitology. Bd. 1.)

Léger (1907): Les schizogrégarines des Trachéates. I. Le genre Ophryocystis. (Arch. f. Protistenk. Bd. 8.)

Derselbe (1909): II. Le genre Schizocystis. (Arch. f. Protistenk. Bd. 18.)

Léger u. Duboscq (1908): L'évolution schizogonique de l'*Aggregata eberthi* (Labbé). (Arch. f. Protistenk. Bd. 12.)

Moroff (1908): Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregata-Arten usw. (Arch. f. Protistenk. Bd. 11.)

Siedlecki (1898): Etude cytologique et cycle évolutif de la coccidie de la seiche. (Ann. de l'Inst. Pasteur. Bd. 12.)

Smith (1905): Note on a Greg. (*Aggregata inachi* n. sp.) (Mitt. d. zool. Stat. Neapel. Bd. 17.)


n
o
p
a
m
b
l
c
k
d
i
e
h
g
f


o
a
n
m
b
l
α
β
c
k
d
i
e
h
g
f

Tafelerklärung.

Tafel XII.

Entwicklung von *Gregarina ovata* (L. DUFOUR). (*a*, *b* nach PÄHLER 1904, *d* nach SCHNITZLER 1905; die übrigen Original; *e*—*k* zum Teil nach konserv. Stücken oder mehreren Schnitten ergänzt und etwas schematisiert, *l*—*p* nicht schematisiert.)

a—*c* Wachstum der vegetativen Darmgregarine. *d* Encystierung. *e*—*f* Kernvermehrung. *g* Beginn der Gametenbildung. *h* Kurz vor der Gametenverschmelzung; Bewegung des Plasmarestes. *i* Sporocysten-Wanderung ins Innere der Cyste. *k* Ausschleuderung der Sporocysten durch die Sporodukte. *l* Gameten vor der Copulation. *m* Copulation der Gameten. *n* Spindel des Synkaryon. *o* Vierkernige Sporocysten (mit je 3 Chromosomen!). *p* Sporocyste mit Sporozoiten.

Tafel XIII.

Entwicklung von *Echinomera hispida* A. SCHN. (Nach SCHELLACK 1907.)

a—*d* Wachstum des Sporozoiten bis zur fertigen Gregarine. *e* Encystierung. *f*—*h* Kernvermehrung. *i* Gametenbildung beendigt. *k* Ausschleuderung des Sporocystenkörpers. *l*, *α* u. *β* weibliche und männliche Gameten. *m* Befruchteter weiblicher Gamet. *n* Sporocystenbildung. *o* Sporocysten (bereits unter Einwirkung des Darmsaftes des Lithobius).

Berichtigungen für den I. Band.

1. Seite 12, Zeile 1 ist hinter „lokomotorischen" einzuschalten „Organe".
2. Seite 12, Absatz 3, Zeile 14 ist hinter „Eliminierung" einzuschalten „des Osmiums".
3. Seite 15, Zeile 6 soll es heißen „protozoischer" anstatt „porozoischer".
4. Seite 21, 6. und 7. Zeile des Abschnittes 3a sind die Worte „Alkali" und „Säure" gegeneinander auszutauschen.
5. Seite 35, Zeile 11 soll es heißen statt „allein" „unter anderem".

G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.

I. Band.

HANDBUCH

der

Pathogenen Protozoen.

Unter Mitwirkung von

Exz. Prof. Dr. **P. Ehrlich**, Frankfurt a. M., Prof. Dr. **Fr. Fülleborn**, Hamburg, **G. Giemsa**, Hamburg, Dr. **R. Gonder**, Frankfurt a. M., Dr. **L. Halberstaedter**, Berlin-Charlottenburg, Prof. Dr. **M. Hartmann**, Berlin, Dr. **A. Leber**, Göttingen, Dr. **B. Lipschütz**, Wien, Dr. **Manteufel**, Berlin, Dr. **R. Maresch**, Wien, Dr. **M. Mayer**, Hamburg, Prof. Dr. **P. Mühlens**, Hamburg, Dr. **E. Neresheimer**, Wien, Prof. Dr. **B. Nocht**, Hamburg, Prof. Dr. **H. Ollwig**, Daressalam, Dr. **Reichenow**, Berlin, Dr. **H. da Rocha-Lima**, Hamburg, Dr. **E. Rodenwaldt**, Togo, Dr. **C. Schellack**, Berlin, Dr. **O. Schröder**, Heidelberg, Prof. Dr. **A. Schuberg**, Berlin-Großlichterfelde, Dr. **E. Teichmann**, Frankfurt a. M., Dr. **H. Werner**, Hamburg

herausgegeben

von

S. von Prowazek

in Hamburg.



ERSTER BAND.

Mit 6 farbigen und 7 schwarzen Tafeln und 205 Figuren im Text.



Leipzig, 1912.

Verlag von Johann Ambrosius Barth.

Eine Einbanddecke für Lieferung 1—4 (Band I) steht zum Preise von M. 1.— zur Verfügung.

G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.

